

VACINA RECOMBINANTE TRIVALENTE CONTRA A LINFADENITE CASEOSA

ESHILEY SHAIANE COSTA MENDES¹; LUIS FELIPE AVILA VIANA²; LUISA ISOLDI ROMAGNOLI²; MÔNICA ELLEN DA COSTA SOARES²; LUIZA DOMINGUES MORON²; SIBELE BORSUK³

¹Laboratório de Biotecnologia Infecto-Parasitária; CDTec, UFPEl – eshiley.cmendes@gmail.com

²Laboratório de Biotecnologia Infecto-Parasitária; CDTec, UFPEl – felipe281206@gmail.com

³Laboratório de Biotecnologia Infecto-Parasitária; CDTec, UFPEl – luisaromag@gmail.com

²Laboratório de Biotecnologia Infecto-Parasitária; CDTec, UFPEl – monicaellencs@gmail.com

²Laboratório de Biotecnologia Infecto-Parasitária; CDTec, UFPEl – moronluiza@gmail.com

³Laboratório de Biotecnologia Infecto-Parasitária; CDTec, UFPEl – sibeleborsuk@gmail.com

1. DESCRIÇÃO DA INOVAÇÃO

A linfadenite caseosa (LC) é uma doença infectocontagiosa de significativo impacto econômico na criação de pequenos ruminantes, causada pela bactéria intracelular facultativa *Corynebacterium pseudotuberculosis*, que acomete principalmente ovinos e caprinos e apresenta como uma de suas principais características a formação de abscessos em linfonodos (BAIRD; FONTAINE, 2007). A permanência do microrganismo no interior das lesões, associada ao acúmulo de material caseoso, dificulta a ação de antimicrobianos e limita a eficiência do tratamento (GUIMARÃES et al., 2011). Consequentemente, a LC constitui um importante problema na produção de pequenos ruminantes, ocasionando perdas econômicas significativas mundialmente, inclusive no Brasil (DORELLA et al., 2006). Nesse contexto, a vacinação representa a melhor alternativa para o controle da doença, entretanto, ainda não existem vacinas comercialmente disponíveis capazes de conferir proteção eficaz contra *C. pseudotuberculosis*, evidenciando a necessidade de novas abordagens vacinais (DE PINHO et al., 2021).

Entre os principais alvos investigados para o desenvolvimento de vacinas contra a LC, destacam-se a fosfolipase D (rPLD), a fosfatase ácida rCP01850 e a endoglicosidase rCP40. A rPLD está associada à virulência do patógeno, enquanto as proteínas rCP01850 e rCP40 foram identificadas como alvos com potencial imunogênico, apresentando características relevantes para sua utilização em formulações vacinais recombinantes conforme descrito por DORELLA e colaboradores (2007).

A partir da identificação desses alvos, foi desenvolvida uma formulação contendo as proteínas rPLD, rCP01850 e rCP40 associadas ao hidróxido de alumínio como adjuvante. A proposta reúne diferentes componentes proteicos de *C. pseudotuberculosis* em uma única preparação, explorando o potencial de antígenos distintos para a composição de uma vacina recombinante. Dessa forma, a formulação apresenta-se como uma alternativa promissora para a prevenção da linfadenite caseosa, atendendo às demandas do setor agropecuário por soluções vacinais mais eficientes.

2. ANÁLISE DE MERCADO

O público-alvo da vacina recombinante compreende principalmente produtores de ovinos e caprinos, médicos-veterinários e empresas voltadas à

sanidade animal, especialmente aquelas envolvidas na prevenção e no controle de doenças nos rebanhos. A linfadenite caseosa está associada a impactos econômicos expressivos no Brasil, decorrentes de fatores como descarte de carcaças, redução da produtividade, gastos com tratamentos e restrições à comercialização de animais e produtos de origem animal (DORELLA et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2011). Em escala mundial, os impactos produtivos da doença são relevantes, sendo estimada a perda de mais de 1 milhão de animais comercializáveis anualmente em decorrência de abates precoces e descartes relacionados às lesões provocadas pela infecção (MENDES et al., 2023).

O mercado de vacinas contra a linfadenite caseosa possui produtos nacionais e internacionais, como Glanvac 6 (Zoetis), LinfoVac (Vencofarma), Vacina 1002 (Labovet) e Case-Bac (Colorado Serum), baseados principalmente em toxoides, bacterinas ou cepas vivas atenuadas de *C. pseudotuberculosis*. Nesse cenário, a vacina proposta diferencia-se pela utilização de três antígenos recombinantes purificados (rPLD, rCP01850 e rCP40) associados ao hidróxido de alumínio, constituindo uma abordagem distinta das principais formulações comerciais, sendo mais segura e específica, e posicionando-se no segmento de novas tecnologias vacinais para o controle da linfadenite caseosa.

A expansão do setor de saúde animal no Brasil evidencia um cenário favorável à adoção de novas tecnologias destinadas à prevenção e ao controle de doenças em animais de produção. Em 2023, o setor movimentou aproximadamente R\$ 10,5 bilhões, com os produtos destinados a ruminantes representando uma parcela significativa desse mercado (SINDAN, 2024). Considerando a ocorrência da LC e os impactos econômicos associados à doença, a formulação apresenta elevado potencial de mercado, especialmente em regiões onde a enfermidade apresenta alta incidência. Nesse contexto, o desenvolvimento de uma solução inovadora, eficaz e de menor custo pode contribuir para o controle da doença, promovendo benefícios tanto à saúde dos animais quanto à sustentabilidade econômica da produção rural.

3. ESTRATÉGIA DE DESENVOLVIMENTO E IMPLEMENTAÇÃO

As proteínas recombinantes utilizadas na presente tecnologia são rPLD, rCP01850 e rCP40, derivadas de *C. pseudotuberculosis*. Para sua produção, os genes correspondentes são clonados nos plasmídeos pAE/pld, pAE/cp01850 e pAE/cp40, respectivamente, e utilizados na transformação de células de *Escherichia coli* BL21 Star. Após o cultivo das células transformadas, a expressão das proteínas é induzida pela adição de IPTG, seguida da recuperação e purificação dos antígenos recombinantes. A expressão e a identidade das proteínas são confirmadas por análise por Western blot utilizando anticorpo anti-6x-his. As proteínas recombinantes obtidas são posteriormente utilizadas na formulação da vacina destinada à prevenção e ao controle da linfadenite caseosa.

Após 21 dias da segunda imunização, os animais foram submetidos ao desafio experimental com a cepa virulenta MIC-6 de *C. pseudotuberculosis*. Essa etapa teve como objetivo verificar se a vacina foi capaz de proteger os animais contra a infecção. Sendo os animais acompanhados por 40 dias e avaliados quanto à perda de peso, alterações no pêlo, formação de abscessos e sinais de letargia. Ao final, a sobrevivência dos animais foi utilizada para avaliar o nível de proteção proporcionado pela vacina.

A inovação gerará receita por meio da comercialização da vacina recombinante ou do licenciamento da tecnologia para empresas de saúde animal, com possibilidade de pagamento de royalties. O preço será definido de forma competitiva, considerando os custos de produção, registro e distribuição, buscando acessibilidade aos produtores. A distribuição poderá ocorrer por meio de empresas veterinárias, cooperativas e distribuidores regionais. Parcerias com empresas do setor e associações de produtores poderão viabilizar a produção, comercialização e expansão da tecnologia.

Com base nesses dados, nossa tecnologia está em um estágio de desenvolvimento intermediário (nível 4 de maturidade tecnológica) possuindo patente registrada no INPI (BR1020200054228). No entanto, ainda não foram realizados testes nos animais-alvo (ovinos e caprinos) ou em condições de campo, necessários para avançar níveis superiores de maturidade tecnológica. Sendo assim, as etapas seguintes incluem avaliação da eficácia em animais de produção, ajustes de formulação com possíveis novos adjuvantes, estudos em condições reais de criação e definição de protocolos de escalonamento produtivo.

Os principais desafios para a implementação da tecnologia incluem a necessidade de validação em espécies-alvo, as exigências regulatórias para o registro comercial e a aceitação da tecnologia no mercado. Para minimizar esses riscos, prevê-se o desenvolvimento de formulações capazes de ampliar a proteção, a adoção rigorosa de protocolos de biossegurança, o alinhamento com os órgãos reguladores e a utilização estratégica da patente como diferencial competitivo.

4. RESULTADOS ESPERADOS E IMPACTO

A vacina composta pelas proteínas recombinantes apresenta potencial significativo para a prevenção LC na ovinocaprino cultura. Os resultados obtidos demonstraram 100% de proteção no modelo experimental, indicando elevada eficácia e potencial para o desenvolvimento de uma vacina recombinante segura destinada a pequenos ruminantes. A aplicação dessa tecnologia poderá gerar impactos positivos na ovinocaprino cultura, contribuindo para a redução da ocorrência da doença, das perdas produtivas e dos custos relacionados ao diagnóstico, tratamento e descarte de animais afetados. A prevenção da LC também poderá favorecer a manutenção dos rebanhos e melhorar a produtividade de carne, leite e pele, aumentando a eficiência e a rentabilidade da produção. No âmbito tecnológico, a utilização de proteínas recombinantes permite uma abordagem mais específica e padronizada para a produção vacinal, além de possibilitar o desenvolvimento de formulações com diferentes combinações de antígenos. A produção nacional poderá ainda reduzir a dependência de tecnologias importadas e fortalecer a capacidade brasileira de desenvolvimento de produtos biotecnológicos voltados à saúde animal. Do ponto de vista econômico e social, a inovação apresenta potencial de inserção no mercado veterinário, podendo beneficiar produtores de diferentes escalas e estimular parcerias entre universidades, centros de pesquisa e empresas do setor. A redução da necessidade de intervenções terapêuticas também poderá contribuir para o uso mais racional de antimicrobianos. Como próximas etapas, prevê-se a

realização de estudos em espécies-alvo, avaliações de segurança e eficácia em condições de campo, além do aprimoramento da formulação e do escalonamento do processo produtivo. A obtenção dos requisitos necessários para o registro poderá viabilizar a comercialização da vacina no mercado nacional e, futuramente, sua expansão para outros países produtores de ovinos e caprinos.

5. CONCLUSÕES

A formulação contendo a associação das proteínas recombinantes rPLD, rCP01850 e rCP40 demonstrou 100% de proteção no modelo experimental, destacando seu potencial como alternativa vacinal contra a linfadenite caseosa e para a redução dos impactos econômicos da doença. A continuidade dos estudos, especialmente em espécies-alvo e em condições de campo, será essencial para avançar rumo ao registro e à comercialização. Parcerias com empresas, investidores e instituições de pesquisa poderão contribuir para o escalonamento e a implementação da tecnologia no mercado veterinário.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DE SÁ GUIMARÃES, A.; DO CARMO, F.B.; PAULETTI, R.B.; SEYFFERT, N.; RIBEIRO, D.; LAGE, A.P.; HEINEMANN, M.B.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V.; GUIMARÃES GOUVEIA, A.M. Caseous Lymphadenitis: Epidemiology, Diagnosis, and Control. *IIOAB J.* 2011, 2, 33–43.

DORELLA, FA; PACHECO, LGC; OLIVEIRA, SC; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. *Corynebacterium Pseudotuberculosis: Microbiology, Biochemical Properties, Pathogenesis and Molecular Studies of Virulence. Veterinary Research.* 2006, 37, 201–218.

DE OLIVEIRA SILVA, M.T.; BEZERRA, F.S.B.; DE PINHO, R.B.; BEGNINI, K.R.; SEIXAS, F.K.; COLLARES, T.; PORTELA, R.D.; AZEVEDO, V.; DELLAGOSTIN, O.; BORSUK, S. Association of *Corynebacterium Pseudotuberculosis* Recombinant Proteins RCP09720 or RCP01850 with RPLD as Immunogens in Caseous Lymphadenitis Immunoprophylaxis. *Vaccine* 2018, 36, 74–83.

BEZERRA, F. S. B., REZENDE, A. F. S., SILVA, M. T. de O., SENA-LOPES, Â., ROESCH-ELY, M., HENRIQUES, J. A. P., PADILHA, F. F., AZEVEDO, V. A. C., PORTELA, R. W. D., SEIXAS, F. K., COLLARES, T. V., & BORSUK, S. The combination of Brazilian red propolis and recombinant protein rCP01850 in the immunoprophylaxis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in mice. *Vaccine* 2020, 149, 104-354.