



## RESPOSTA IMUNE DA MUCOSA CUTÂNEA DE PACUS (*Piaractus mesopotamicus*) VACINADOS INTRAPERITONEALMENTE E POR IMERSÃO CONTRA AEROMONIOSE

Farias, T.H.V.<sup>1</sup>; Pala, G.<sup>2</sup>; Moraes, A.C.<sup>2</sup>; Prado, E. J.R.<sup>3</sup>; Kotzent, S.<sup>4</sup>; Custódio, J.<sup>1</sup>, Pilarski, F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Patologia e Microbiologia de Organismos Aquáticos, Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal, Brasil. \*e-mail: thais.vfarias@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Patologia Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil.

<sup>4</sup> Departamento de Microbiologia Agropecuária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil.

### Produção e Sustentabilidade

**Palavras-chave:** *Aeromonas hydrophila*, Pacu, Vacinação.

### Introdução

A bactéria *Aeromonas hydrophila* é responsável por surtos de mortalidade de peixes, dentre eles o pacu (*Piaractus mesopotamicus*), um dos principais peixes nativos cultivados no Brasil. Apesar disso, ainda não há vacina comercial para o controle desta enfermidade em peixes.

A imunização por injeção intraperitoneal (i.p) apresenta maior nível e duração da eficácia em peixes. Já, a proteção da vacina por imersão depende da capacidade de absorção da mucosa da pele e brânquias em captar os antígenos vacinais em suspensão na água (DEHGHANI et al., 2012). Diante dos poucos estudos sobre a eficácia da vacina no aumento da imunidade da mucosa cutânea de peixes, este estudo avaliou a resposta imune local da mucosa cutânea de *P. mesopotamicus* vacinados via imersão e via i.p contra *A. hydrophila*.

### Material e métodos

Juvenis de pacus (15± 5 g) foram divididos em quatro tratamentos com três repetições cada (n=45), sendo o primeiro grupo vacinado com injeção i.p contendo 0,1 mL de *A. hydrophila* inativada emulsificada com adjuvante incompleto de Freund. O segundo grupo foi vacinado em banho de imersão por 40 minutos em solução de *A. hydrophila* inativada. No terceiro grupo foi realizado o mesmo procedimento sendo repetido após 30 dias o reforço vacinal (*booster*) por imersão. O quarto grupo foi inoculado com 0,1mL de PBS estéril (controle). As vacinas foram produzidas com *A. hydrophila* na concentração de 1,0 x 10<sup>8</sup> unidade formadora de colônia (UFC). Nos dias 14, 28, 42 e 84 pós-vacinação foram coletadas amostras de



muco para avaliação da atividade da lisozima (KIM e AUSTIN, 2006) e para determinação dos níveis de anticorpos anti- *A. hydrophila* no muco por ELISA indireto (ROBERTSON e AUSTIN, 1998). Os dados foram analisados usando ANOVA e a comparação dos diferentes grupos experimentais foi estimada por Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## Resultados e Discussão

Aos 28 dias pós-vacinação, os peixes vacinados apresentaram maior concentração de lisozima em relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). Aos 42 dias pós-vacinação, foi observada diferença estatística entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ), sendo superior nos peixes vacinados i.p, seguido por animais vacinados por imersão. Ao final do período experimental, somente os animais imunizados com injeção i.p mantiveram a concentração de lisozima elevada no muco ( $p < 0,05$ ) (Figura 1). Esteve-Gassent et al. (2004) também obtiveram aumento na concentração de lisozima do muco de enguias após imunização por imersão com *booster* e via i.p.

Aos 42 dias pós-imunização foi detectado maior título de anticorpos no muco dos peixes vacinados por injeção i.p e imersão com *booster* ( $p < 0,05$ ), sendo que aos 84 dias pós-vacinação apenas o grupo imunizado por i.p manteve elevado o título de anticorpos no muco ( $p < 0,05$ ) (Figura 2). Assim como observado no pacu, tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) vacinados via i.p também apresentaram maior título de anticorpos no muco seis semanas após vacinação com injeção i.p contra *Flavobacterium columnare*, porém não houve incremento da imunidade adaptativa em muco das tilápias vacinadas por imersão (GRABOWSKI et al., 2004).

O aumento na titulação de anticorpos no muco após a vacinação pode ocorrer a partir dos elevados títulos de anticorpos presentes no soro, os quais podem ser transferidos ao muco ou pela ativação dos linfócitos B que migram para os tecidos da mucosa onde ocorre produção local de anticorpos (DEHGHANI et al., 2012).

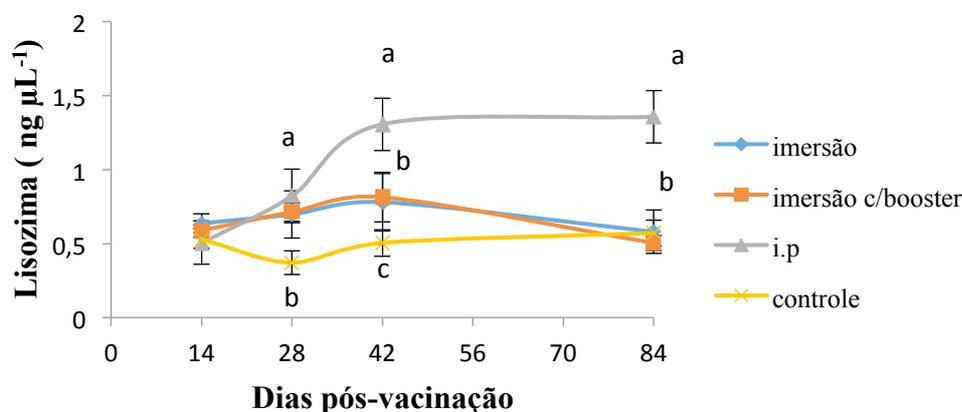
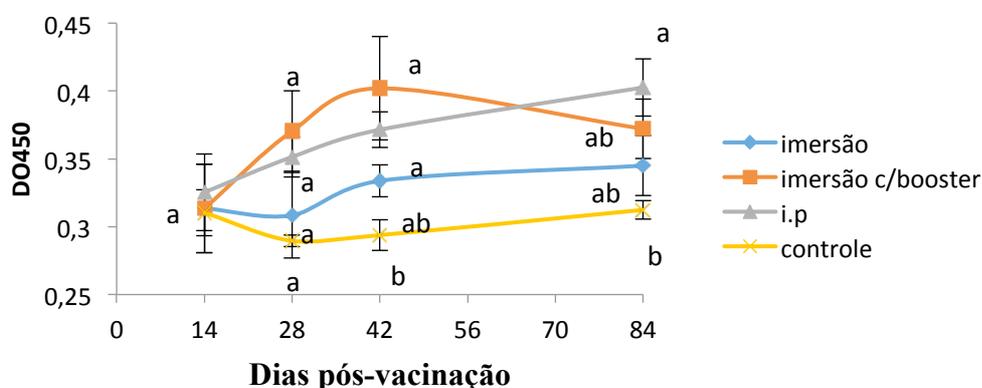


Figura 1- Concentração da lisozima ( $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ ) no muco da pele de *P. mesopotamicus* imunizados por injeção i.p, imersão; imersão com *booster* e injeção com PBS (controle). Valores seguidos pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). Barras indicam  $\pm$ SEM.



**Figura 2** - Título de anticorpos no muco de *P. mesopotamicus* após imunização por injeção i.p; imersão; imersão com *booster* e injeção com PBS (controle) determinado pelo ensaio de ELISA indireto. Valores seguidos pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). Barras indicam  $\pm$ SEM.

### Conclusões

As vacinas administradas por imersão c/ *booster* e via i.p induziram uma forte resposta imune humoral inata e adaptativa na mucosa cutânea de pacu, no entanto apenas a via i.p proporcionou uma resposta imune local mais intensa e duradoura.

### Suporte financeiro

CAPES

### Referências

- ESTEVE-GASSENT, M.D., et al. Efficacy of a bivalent vaccine against eel diseases caused by *Vibrio vulnificus* after its administration by four different routes. **Fish Shellfish Immunology**, v. 16, n. 2, p. 93-105, 2004.
- GRABOWSKI, L.D., et al. Systemic and mucosal antibody response in tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), following immunization with *Flavobacterium columnare*. **Journal of Fish Disease**, v. 27, n.10, p.573-581, 2004.
- KIM, D. H; AUSTIN, B. Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. **Fish Shellfish Immunology**, v. 21, n.5, p. 513-524, 2006.
- ROBERTSON, P.A; AUSTIN, B. Experimental *Vibrio harveyi* infections in *Penaeus vannamei* larvae. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.32, n.2, p.151-155, 1998.
- DEGHANI, S., et al. Efficacy of formalin-killed, heat-killed and lipopolysaccharide vaccines against motile aeromonas infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Global Veterinaria**, v. 9, n. 4, p. 409-415, 2012.