



XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

18 a 20 Outubro Campinas | Brasil

25 anos

2017



PREPARAÇÃO VACINAL DA ASSOCIAÇÃO DO VÍRUS influenza A COM VESÍCULA DE MEMBRANA EXTERNA DE *Neisseria meningitidis*.

Paula Martins*, Marcelo Lancellotti.

Resumo

O vírus da gripe (H2N3) é um agente patogénico com capacidade de causar epidemias recorrentes e pandemias globais devido a sua capacidade de sofrer remanejamento genético e a possibilidade de diminuir a infecção é através de vacinas. Este estudo tem como objetivo a utilização de vesículas de membrana externa (OMV), extraídas de *Neisseria meningitidis*, na adjuvância e extração do vírus da influenzae A humano (FluA).

Palavras-chave:

H2N3, OMV, Vacina.

Introdução

O vírus da gripe, conhecido por ser um agente patogénico que circula pela população humana desde o século 16¹, é notável pela sua capacidade única de causar epidemias recorrentes e pandemias globais devido a sua capacidade de sofrer remanejamento genético². Recentemente, a progressão do desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos tem estimulado mudanças no tratamento destas infecções, portanto é de suma importância estudar possibilidade de diminuir a infecção causada pelas mesmas e uma tentativa é através de vacinas³. Este estudo tem como objetivo a utilização de vesículas de membrana externa (OMV), extraídas de *Neisseria meningitidis*, na adjuvância e extração do vírus da influenzae A humano (FluA)⁴. Tem-se como objetivo desenvolver uma vacina anti-influenza A morta ou atenuada com partículas virais ou de peptídeos de superfície do envelope viral com atividade imunogénica. Tal vacina utilizará a Nanotecnologia seja na sua produção e purificação quanto na sua adjuvância visando uma maior amplitude e eficácia vacinal.

Resultados e Discussão

As linhagens bacterianas que são utilizadas para produzir a vacina de estudo foram, primeiramente, crescidas em meio ágar chocolate à 37°C em anaerobiose com a finalidade de criar um estoque para utilização futura. Posteriormente, deu-se início ao processo fermentativo, e os testes com o Equipamento Zetasizer Nano para medir a magnitude da carga eletrostática/interação entre as partículas e a análise de rastreamento de nanopartículas que permite a observação das partículas pelo Movimento Browniano (velocidade de movimento está diretamente relacionada com o tamanho da partícula).

1. Padronização das OMVs - Obteve-se a média do tamanho das nanopartículas no valor de 252,8 nm (Pdi: 0,513) e a carga em -12,7 mV (dp:1,9).

2. Interação Flu A com a OMV - Pode-se observar que a média da maior população destas (D90) apresentou um tamanho maior do que a OMV isolada. Com isto, podemos presumir que o vírus e a nanopartícula estão conectados.

3. Infecção da célula com o vírus e efeito OMV - Podemos notar que o valor foi maior ainda quando infectamos diretamente a célula MDCK. Com isto, continuamos a suspeitar da interação entre a célula, OMV e vírus. Esta informação é confirmada quando observamos o valor da carga eletrostática das amostras. O potencial zeta da associação célula, vírus e OMV é mais positiva do

que a OMV sozinha, presumindo então a conexão entre as três estruturas.

Tabela 1. Média de resultados ZetaSizer Nano e Análise de rastreamento de nanopartículas (NTA).

	OMV	OMV + FLU A	OMV + FLU A + MDCK
ZetaSizer	-12, 7mV	-10,9 mV	- 1,30 mV
NTA	252,8 nm	282,0 nm	481,0 nm

De acordo com os resultados obtidos, a nanopartícula de interesse para a composição da vacina apresenta um tamanho compatível ao diâmetro das OMVs descritas na literatura. Além disso, por serem derivadas de células bacterianas, carregam em sua estrutura componentes da membrana da bactéria. Sendo assim, apresentam naturalmente componentes em sua membrana que podem estimular o sistema imune do paciente e transmitir funções biológicas no meio ambiente e em outras células⁵.

Conclusões

Os resultados obtidos mostram que uma vacina baseada na nanopartícula juntamente ao vírus morto possui uma grande interação e é uma possível possibilidade de diminuir a infecção causada pelo patógeno.

Agradecimentos

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Unicamp por proporcionar um ambiente criativo e amigável. Ao meu querido amigo/orientador Marcelo por toda intensidade e incentivo. À minha família maravilhosa e meu amor Rafael, por sempre me apoiarem e estarem ao meu lado.

¹ Narain, J. P. e R. Bhatia. Influenza A (H1N1): responding to a pandemic threat. *Indian J Med Res*, v.129, n.5, May, p.465-7. 2009.

² Narain, J. P., R. Kumar, *et al.* Pandemic (H1N1) 2009: epidemiological, clinical and prevention aspects. *Natl Med J India*, v.22, n.5, Sep-Oct, p.242-7. 2009.

³ Hollanda, L. M., G. C. Cury, *et al.* Effect of mesoporous silica under *Neisseria meningitidis* transformation process: environmental effects under meningococci transformation. *J Nanobiotechnology*, v.9, Jul 25, p.28.

⁴ Uli, L., L. Castellanos-Serra, *et al.* Outer membrane vesicles of the VA-MENGOC-BC vaccine against serogroup B of *Neisseria meningitidis*: Analysis of protein components by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics*, v.6, n.11, Jun, p.3389-99. 2006.

⁵ SYED, M.A. Advances in nanodiagnostic techniques for microbial agents. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013. 51:391-400.