

DESENVOLVIMENTO DE VACINAS PARA JUVENIS DE PINTADO  
*Pseudoplatystoma corruscans* CONTRA A BACTÉRIA *Lactococcus garvieae* \*

Raissa B. CAVALCANTE<sup>1,2</sup>; Hirla Costa Silva FUKUSHIMA<sup>3</sup>; Carlos Augusto Gomes LEAL<sup>4</sup>;  
Henrique Cesar Pereira FIGUEIREDO<sup>4</sup>; Fábio Rosa SUSSEL<sup>5</sup>;  
Maria José Tavares RANZANI-PAIVA<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Bolsista de Treinamento Técnico, Fapesp

<sup>2</sup> Endereço/Address: APTA Polo Centro Leste – UPD Pirassununga - Av. Virgílio Baggio, 85, Cachoeira de Emas – Pirassununga – SP – Brasil – CEP: 13641-004. e-mail: raissa\_aps@hotmail.com

<sup>3</sup> Doutoranda em Aquicultura no Caunesp/Jaboticabal

<sup>4</sup> Professor do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da UFMG

<sup>5</sup> Pesquisador Científico da UPD de Pirassununga, Polo Centro-Leste

<sup>6</sup> Pesquisadora Científica do Instituto de Pesca

\* Apoio financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), processo 2012/07852-0

**Palavras-chave:** Aquicultura; sanidade; vacinação.

## INTRODUÇÃO

O pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) é uma espécie de peixe de elevado valor comercial e alta aceitação no mercado. Contudo os problemas sanitários têm-se apresentado como um dos principais entraves para o cultivo dessa espécie. A ocorrência de surtos de doenças bacterianas tem ocasionado elevadas perdas econômicas. A administração de vacinas é uma alternativa adequada para o controle dessas enfermidades. BASTARDO *et al.* (2012) e RAVELO *et al.* (2006) demonstraram que outra ferramenta capaz de aumentar a eficácia e duração da proteção da vacina, sem a necessidade de revacinação, é a utilização de adjuvantes na formulação da vacina. Neste contexto, o presente estudo visa avaliar a vacinação de pintados contra *Lactococcus garvieae*, como medida de controle e erradicação desta doença bacteriana de ocorrência mundial, que ocasiona severos prejuízos desde a década de 1990, afetando uma variedade de espécies de peixes de água doce e marinha (VENDRELL *et al.*, 2006), cuja infecção é caracterizada por um quadro de meningoencefalite aguda e septicemia hemorrágica, com elevada taxa de mortalidade.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na APTA/UPD de Pirassununga em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos (PBS, Bacterina, Bacterina+Adjuvante) e o

controle para cada tratamento, totalizando 18 unidades experimentais. Foram utilizados 180 peixes: 10 peixes por caixa com volume de 50 L, aeração contínua e alimentação com ração comercial (PB 40%) três vezes ao dia.

Com os animais anestesiados, procedeu-se à vacinação (*L. garvieae*) com injeção de 0,1 ml dos tratamentos na cavidade peritoneal. Após 30 dias da vacinação, foi efetuado o desafio bacteriano por meio de injeção intraperitoneal de 0,1 ml de *L. garvieae* ( $1 \times 10^8$  UFC) e PBS no controle, para assegurar o mesmo estresse em todos os peixes. Durante o desafio, os peixes foram observados a cada 8 horas durante 21 dias quanto a mortalidade e ocorrência de sinais clínicos. Os animais mortos foram encaminhados para laboratório para reisolamento da bactéria em meio de cultura THA do rim cefálico e cérebro, a fim de confirmar a presença da bactéria. Os tratamentos testados estão descritos na Tabela 1.

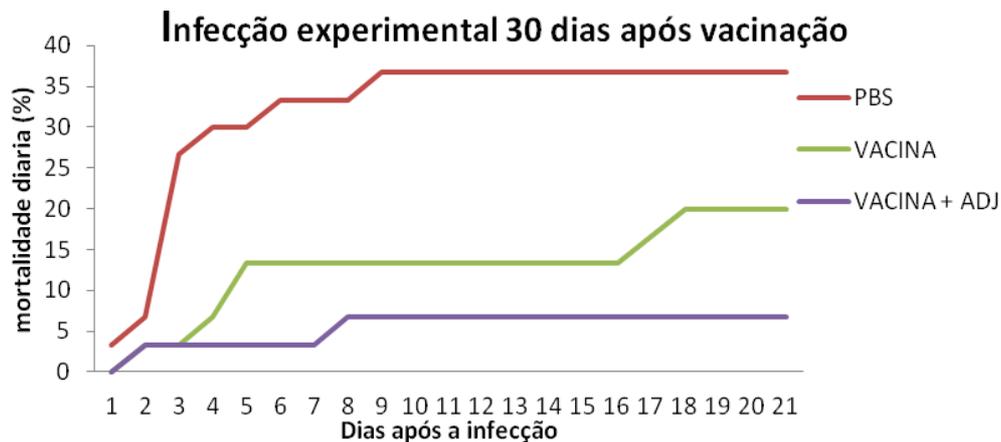
**Tabela 1:** Tratamentos experimentais utilizados.

Tratamento	Número Peixes	Vacinação	Desafio
1	30	PBS	<i>L. garvieae</i>
2	30	Bacterina	<i>L. garvieae</i>
3	30	Bacterina+Adjuvante	<i>L. garvieae</i>
4	30	PBS	PBS
5	30	Bacterina	PBS
6	30	Bacterina+Adjuvante	PBS

Para formulação da bacterina, uma cepa de *L. garvieae* previamente isolada de *Pseudoplatystoma corruscans* doentes foi selecionada e inoculada em 250 mL de meio THB a 30 °C, por 24 horas sob agitação contínua, obtendo uma concentração final de  $1 \times 10^9$  UFC/mililitro. As células bacterianas foram inativadas pela adição de 1% (v/v) de formalina (formaldeído 37%, Panreac, Espanha) e mantidas a 4 °C *overnight*. Para formulação da vacina oleosa, a bacterina aquosa foi concentrada por centrifugação e misturada com óleo adjuvante (50% v/v) não mineral Montanide ISA-763-AVG (Seppic, França), respectivamente com concentração final de  $1 \times 10^9$  UFC/mililitro. Ensaios de esterilidade foram realizados semeando 0,1 mL de solução vacinal em placas de TSA e incubando por 5 dias a 28 °C. Os resultados foram avaliados por análise de variância ANOVA, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, sendo as diferenças consideradas significantes quando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontradas diferenças significativas nos valores de mortalidade acumulada entre os tratamentos PBS e vacina com adjuvante ( $P < 0,05$ ), não sendo encontradas diferenças entre os demais tratamentos ( $P > 0,05$ ). O Gráfico 1 evidencia a mortalidade diária ocorrida em cada tratamento durante a infecção experimental.



**Gráfico 1.** Infecção experimental 30 dias após vacinação.

## CONCLUSÃO

A injeção intraperitoneal de bacterina+adjuvante mostrou-se eficaz contra *Lactococcus garvieae* em pintado, 30 dias após vacinação.

## REFERÊNCIAS

- BASTARDO, A.; RAVELO, C.; CASTRO, N.; CALHEIROS, J.; ROMALDE, J.L. 2012 Effectiveness of bivalent vaccines against *Aeromonas hydrophila* and *Lactococcus garvieae* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Fish and Shellfish Immunology* (in press).
- RAVELO, C.; MAGARINOS, B.; HERRERO, M.C.; COSTA, L.; TORANZO, A.E.; ROMALDE, J.L. 2006 Use of adjuvanted vaccines to lengthen the protection against lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mikiss*). *Aquaculture*, 252: 153-158.
- VENDRELL, D.; BALCÁZAR, J.L.; RUIZ-ZARZUELA, I.; BLAS, I.; GIRONÉS, O.; MÚZQUIZ, J.L. 2006 *Lactococcus garvieae* in fish: A review. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 29: 177-198.