

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE ANTÍGENO NA SÍNTESE DE ANTICORPOS DE RESPOSTA PRIMÁRIA E SECUNDÁRIA EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO

FERNANDO A. DE Araújo¹, PEDRO N. Jorge Neto¹, RODRIGO DE M. Pitta¹, Rômulo da S. JORGE¹, Maria Raquel de G. ORIANI², Rosimary de J. G. TURRI²

¹ Alunos do Curso de Medicina Veterinária da UNIFEQB, São João da Boa Vista/SP.

² Professoras da disciplina de Processos Patológicos Gerais da UNIFEQB, São João da Boa Vista/SP.

RESUMO: Estudo realizado para investigação da resposta imune primária e secundária em camundongos, utilizando como antígeno solução de hemácias de carneiro a 1%, 2,5% e 4%. Os animais receberam duas doses dos antígenos em intervalo de uma semana quando então foi realizada a sangria para obtenção dos soros de resposta imune primária e secundária. Foi realizada a titulação dos soros através da técnica de microhemaglutinação com e sem 2-mercaptoetanol, para verificação das concentrações de IgM e IgG. De acordo com os títulos obtidos concluiu-se que a melhor concentração de antígenos para indução da síntese de anticorpos foi a de 2,5%, utilizando a concentração menor não foi obtida uma resposta satisfatória e a de 4% induziu a morte de vários animais.

PALAVRAS-CHAVE: resposta imune humoral, anticorpos, hemácias de carneiro, hemaglutinação

INTRODUÇÃO

A resposta imune específica é induzida ou estimulada pela exposição a substâncias estranhas (antígeno). Desenvolve-se depois da primeira exposição, aumentando em magnitude e capacidade de defesa a cada exposição sucessiva, podendo ser passiva (recebe anticorpos prontos) ou ativa (o organismo produz seus próprios anticorpos) (BIAZZONO et al., 2001). Além disso, a resposta imune pode ser mediada por linfócitos B, denominada imunidade humoral ou mediadas por linfócitos T, denominada imunidade celular (TIZARD, 2002; SCHATZMAYR, 2003).

O primeiro contato com um antígeno estranho desencadeia uma resposta

mínima de anticorpos denominado Resposta Humoral Primária (RHP) e os contatos subsequentes com o mesmo antígeno desencadeiam uma resposta com o surgimento rápido de grande quantidade de anticorpos, denominado Resposta Humoral Secundária (RHS) (TIZARD, 2002).

Depois da primovacinação (RHP), observa-se três períodos distintos: período de latência, que é o período de inoculação do antígeno ao aparecimento de anticorpos séricos, variando de acordo com o sistema imunológico do animal, da natureza e da forma do antígeno utilizado; período de crescimento, que é o aumento exponencial de anticorpos, que atinge o platô em tempos variados, sendo que a

produção de IgM precede a de IgG; e período de diminuição, queda rápida de anticorpos após atingido o platô (TIZARD, 2002).

A RHS em relação a RHP desenvolve-se mais rapidamente, consistindo em níveis muito mais elevados de anticorpos antígeno-específicos, persistindo por um período de tempo mais prolongado e a produção de IgG precede a de IgM (TIZARD, 2002).

O objetivo deste trabalho foi verificar a influência da concentração de hemácias de carneiro, utilizadas como antígeno, sobre a síntese de anticorpos na resposta imune primária e secundária em animais de laboratório.

MATERIALE MÉTODO

Antígeno foi feito a partir de hemácias de carneiro coletado em Álsever lavadas com solução salina (0,8%) três vezes por centrifugação a 1500 rpm. Foram preparadas soluções de hemácias de carneiro (SHC) de 1%, 2,5% e 4%.

Foram utilizados camundongos da raça Swiss com 3 meses de idade machos, divididos em três grupos, denominados A, B e C e cada grupo dividido em subgrupos 1 e 2.

O grupo A recebeu como antígeno SHC de 1%, o grupo B, SHC de 2,5% e o grupo C, SHC de 4%. O subgrupo 1 recebeu apenas a primeira dose via intraperitoneal (VIP) de SHC, sete dias depois foi coletado o soro de resposta primária. O subgrupo 2 recebeu três doses por VIP de SHC, com intervalos de sete dias e, em seguida foram coletados os soros de resposta secundária.

Foi realizada a titulação dos soros através da técnica de microhemaglutinação com e sem 2-mercaptoetanol, para verificação

das concentrações de IgM e IgG. Foram preparadas duas fileiras de diluição para cada soroimune, na segunda fileira foi adicionado 25 µl de 2-mercaptoetanol 0,1M em salina. Foi adicionado então 25 µl de SHC nas concentrações determinadas anteriormente nos orifícios e observado as áreas de hemaglutinação e títulos de IgM e IgG.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os camundongos do grupo A e B permaneceram saudáveis durante todo o período de observação e nenhum deles apresentou qualquer alteração clínica que pudesse ser imputada com a reação à vacina.

Já alguns animais do grupo C apresentaram alteração clínica relacionada à vacinação, inclusive com óbitos.

O estudo demonstrou que todos os animais apresentaram resposta à vacinação, com diferenças entre os grupos e subgrupos. Levando em consideração que os animais em experimentação não tiveram nenhum tipo de imunização passiva contra o antígeno em questão, portanto sem nenhum título pré-vacinal, foi obtido título pós-vacinal satisfatório na resposta imune secundária.

A menor resposta imune primária do subgrupo 1 foi apresentada pelos animais do grupo C, obtendo -se título de IgM de 1/8. Os animais do grupo A e B obtiveram uma resposta imune primária superior, com título de IgM de 1/16, determinados pela ação do 2-mercaptoetanol. A menor resposta imune secundária do subgrupo 2 foi apresentada pelos animais do grupo A, com título de IgG de 1/64.

Os animais do grupo B e C apresentaram uma boa resposta imune secundária, com título de IgG de 1/512.-, também

determinadas através do 2- mecaptoetanol.

A segunda dose da vacina para induzir a resposta imune secundária foi aplicada durante a fase de platô da resposta primária, não sendo observado então a fase de declínio desta. A segunda dose do antígeno induz uma síntese rápida e alta de anticorpos.

A terceira dose funcionou como dose reforço, sendo condizente com a literatura que diz que reforços posteriores produzirão respostas adicionais, até que se atinjam uma concentração máxima de anticorpos (BIAZZONO et al, 2001).

O exame das respostas que acompanham o estímulo antigênico primário e secundário mostra que a resposta difere sobre quatro aspectos: uma fase de latência quando nenhum anticorpo é detectado; uma fase logarítmica, quando os títulos de anticorpos aumentam exponencialmente; uma fase de platô durante a qual os títulos de anticorpos se estabilizam; e uma fase de declínio, durante a qual os anticorpos são eliminados ou catabolizados.

O tempo real e os títulos alcançados irão depender da natureza do estímulo antigênico e do respondedor (ROITT et al. 1992).

A capacidade de elaborar uma resposta imune secundária baseia-se na “memória imunológica”, que é o princípio dos processos de vacinação (ROITT et al., 1992).

Quanto ao óbito de animais no grupo C, o excesso de antígenos pode ter desencadeado uma reação inflamatória aguda como consequência da quantidade excessiva de antígenos inoculados. Segundo AIELLO (2001) doses

excessivas de antígeno podem induzir reações de Hipersensibilidade do tipo I.

CONCLUSÃO

Concluiu-se que a solução com concentração de 2,5% de hemácias de carneiro foi a mais eficiente na indução da imunidade nos camundongos, o que foi comprovado pelo título de anticorpos específicos produzidos, tanto de resposta imune primária e secundária. Verificou-se através do 2-mecaptoetanol que a IgM era o anticorpo predominante na resposta primária e que a IgG foi o anticorpo predominante da secundária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- AIELLO, S. E. Sistema Imune In: **Manual Merk de Veterinária**. 8ª ed. São Paulo: Roca, 2001.
- BIAZZONO, L.; HAGIWARA, M. K.; CORREA, A.R. Avaliação da resposta imune humoral em cães jovens imunizados contra a cinomose com vacina de vírus atenuado. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, vol.38, no.5, p.245-250, 2001.
- TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária: Uma Introdução**. São Paulo: Roca, 2002. 545 p.
- ROITT, I. M.; BROSTOFF, J.; MALE, D. K. **Imunologia**. Cap 8. p. 8.1-8.2. 2ª ed. São Paulo: Manoele, 1992.
- SCHATZMAYR, Hermann G. New perspectives in viral vaccines. **Hist. Cienc. Saude**. Manguinhos, vol.10 suppl.2, p.655-669, 2003.