

## AVALIAÇÃO DO SISTEMA DE ENTREGA E ESTABILIDADE DE UMA VACINA DE DNA CONTENDO O GENE *ssiv* DE *Brucella abortus*, ENCAPSULADA EM NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA

*Caitano, M.A.B.*<sup>1</sup>; *Bastos, R.*<sup>1</sup>; *Coelho, M.B.*<sup>2</sup>; *Diehl, L. O.*<sup>2</sup>; *Santos, L.R.*<sup>2</sup>; *Santana, M.S.*<sup>3</sup>; *Rosinha, G.S.M.*<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil, <sup>2</sup> Embrapa Gado de Corte; Campo Grande, MS, Brasil; <sup>3</sup> Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS, Brasil.

marrielenabc@hotmail.com

Brucelose bovina é uma zoonose infecciosa de evolução crônica, provocada por bactérias do gênero *Brucella*. Vacinação é uma das medidas mais efetivas para reduzir a prevalência desta doença e, devido a algumas desvantagens das vacinas atualmente utilizadas, novas formulações, como as vacinas de DNA, estão em testes. Nanopartículas são potenciais carreadores de vacinas de DNA e, entre os polímeros de origem natural, a quitosana tem se mostrado apropriada por ser biodegradável, biocompatível e não tóxico. O complexo vacina de DNA e nanopartículas de quitosana poderá prevenir a degradação da vacina por nucleases e otimizar a entrega de genes no interior das células de mamíferos, melhorando assim a resposta imune efetiva. Neste estudo, estabeleceu-se as bases para o desenvolvimento da vacina de DNA pcDNAssiv, que contém um gene do sistema de secreção do tipo IV de *Brucella abortus*, encapsulada em nanopartículas de quitosana. Para isto, preparou-se nanocápsulas contendo o plasmídeo pcDNAssiv pelo método de coacervação complexa. No ensaio de estabilidade do complexo nanoencapsulado, realizou-se a digestão do plasmídeo com as enzimas DNase e quitosanas e, de restrição. Realizou-se análises *in vitro*, em células MDBK e, *in vivo*, em camundongos, para avaliar a expressão em células de mamíferos, do RNAm do gene *ssiv* nanoencapsulado. Por fim o ensaio da liberação do plasmídeo pcDNAssiv foi simulado em termociclador à temperatura de 37° C. As nanocápsulas contendo o plasmídeo apresentaram-se estáveis quando submetidas aos testes de estabilidade, protegendo o DNA da degradação na presença da enzima DNase e apresentou degradação na presença da enzima quitosanas, liberando o material encapsulado, que sofreu digestão, quando submetido às enzimas de restrição. Nos testes *in vivo* e *in vitro*, foi possível confirmar a expressão do RNAm referente ao gene *ssiv* de *B. abortus*. Por fim, o estudo de liberação mostrou que a partir do oitavo dia, iniciou a liberação do DNA encapsulado numa concentração de 150 ng/μl de DNA, aumentando acentuadamente ao longo dos dias, mostrando que até 30 dias as nanocápsulas continuavam liberando gradativamente o DNA e, em concentrações maiores. Conclui-se que as nanocápsulas de quitosana protegem o DNA até o momento da sua liberação nas células de mamíferos e, que estas células expressam o RNAm de interesse, confirmando a entrega do material.

Apoio: FUNDECT e Embrapa