

Sanidade Animal

Probióticos moduladores da resposta vacinal de caprinos: cultivo e padronização

Sanmira Felício Freitas Martins^{1*}; Sávio de Sousa Martins²; Breno Reinaldo Oliveira³; Rovanne Rocha Brandão⁴; Luiz da Silva Vieira⁵ e Marcel Teixeira⁶

Não é novidade que o nematoide *Haemonchus contortus* causa grandes perdas em rebanhos de caprinos e ovinos e que a utilização inadequada de anti-helmínticos agravou ainda mais esse cenário devido à resistência as drogas. Dessa maneira, alternativas aos antihelmínticos são necessárias para que o impacto das parasitoses seja minimizado. Desde o surgimento da primeira vacina comercial para o nematoide, vem-se trabalhando na adaptação de protocolos para os biomas do Brasil com relativo sucesso em ovinos, mas com limitada eficácia em caprinos. Neste estudo objetivou-se o desenvolvimento de uma estratégia para modulação da eficácia vacinal em caprinos baseada em probióticos. A partir de culturas enviadas por colaboradores da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) iniciou-se um trabalho de padronização e cultivo dos microrganismos na Embrapa Caprinos e Ovinos. As culturas iniciais compostas de *Bacillus toyonensis*, *Sacharomyces boullardi* e *S. cerevisiae* foram diluídas em 1 L de PBS constituindo uma solução mãe. Em seguida, a quantificação em UFC foi realizada a partir de diluições seriadas e contagens das colônias. A solução de uso foi mantida numa concentração final de 10^7 UFC/mL em um volume de 500 mL. Não houve replicação do cultivo de *B. toyonensis* por causa da sua esporulação que permitiu sua utilização por meses sendo estocado nessa concentração. O cultivo das leveduras *S. boullardii* e *S. cerevisiae* foram realizados em meio de cultivo YPD composto de extrato de levedura, peptona bacteriológica e dextrose adicionado de 2% de ágar e incubado por 72h a 28 °C. Após o crescimento, três colônias de cada cultivo foram transferidas para Erlenmeyers de 500 mL com 150 mL de meio YPD e incubados em agitador a 200 rpm por 24h. A seguir os cultivos contendo 9 L de

meio YPD foram incubados em biorreator e sob agitação de 200 rpm a 28 °C por mais 72h. Após esse período o material foi centrifugado a 5.000 x g por 20 min a 4 °C, sendo concentrado em 1 L de solução salina fosfatada (PBS). O controle de pureza foi realizado em todas as etapas utilizando esfregaço bacteriano corado por Gram e semeadura por esgotamento em ágar YPD. Os cultivos de leveduras atingiram concentrações finais de 2×10^8 UFC/mL, mas embora o rendimento tenha sido inferior ao desejado (1×10^9 UFC/mL), considerou-se que a produção foi satisfatória. A partir da concentração obtida e diluição em PBS as doses de probióticos (bactérias e leveduras) foram padronizados para administração oral no volume de 10 mL, suficientes para fornecer 3×10^8 UFC por animal na etapa seguinte do projeto.

Palavras-chave: Nematóide, vacina, microrganismo.

Suporte financeiro: Embrapa e Funcap.

¹ Aluno de graduação em Farmácia do Centro Universitário Inta (Uninta), bolsista BICT/Funcap/Embrapa.

² Aluno de graduação em Biomedicina do Centro Universitário Inta (Uninta), bolsista BICT/Funcap/Embrapa.

³ Aluno de graduação em Medicina Veterinária do Centro Universitário Inta (Uninta), Bolsista BICT/Funcap/Embrapa.

⁴ Aluno do Curso de Mestrado do Centro Universitário Inta (Uninta).

⁵ Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos.

⁶ Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, orientador.

*Apresentadora do trabalho: sanmiraffreitas@gmail.com.