

Avaliação da capacidade fagocítica de neutrófilos de murinos vacinados com proteínas recombinantes de *Staphylococcus aureus* preditoras de cura e prevenção de mastite associadas ou não a ao fator estimulante de colônia de granulócitos e macrófagos (GM-CSF)

Yasmin Vieira Franklin¹, Kamila Reis Santos¹, Fernando Nogueira de Souza¹, Alice Maria Melville Paiva Della Libera¹

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia- USP¹

yasmin.franklin@usp.br

Objetivos

Avaliar o efeito da opsonização na capacidade fagocítica de neutrófilos frente a desafio com *S. aureus* após protocolo de vacinação em murinos com proteínas recombinantes de *S. aureus* (PR) com potencial de cura e prevenção da mastite.

Materiais e Procedimentos

Os grupos experimentais foram divididos em: G1 (proteínas de proteção), G2 (proteínas cura), G3 (vacina de DNA+proteínas de proteção), G4 (vacina de DNA+proteínas de cura) e G5 (controle). Os animais do G3 e G4 receberam 10 µg de vacina de DNA para o GM-CSF, e 20µg de cada proteína recombinante conforme indicado na figura 1. O grupo controle recebeu 25 µg do adjuvante diluídos em solução de PBS.

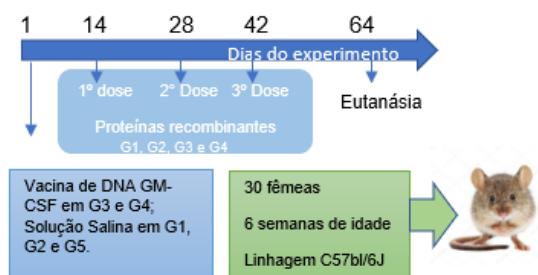


Fig. 1: Cronograma do experimento

Após a eutanásia dos animais foi coletado sangue para realização do teste de capacidade de fagocitose e opsonização dos neutrófilos por citometria de fluxo (Blagitz et al., 2017). Os dados foram analisados pelo teste de Shapiro-Wilk. Dados paramétricos foram pelo ANOVA, seguido de teste de Tukey, e dados não paramétricos pelo teste de Kruskal-Wallis,

seguido pelo teste de Dunn's. Consideramos como significantes dados com $P \leq 0,05$.

Resultados

Não foram observadas diferenças entre os grupos ao compararmos a porcentagem de neutrófilos que fagocitaram partículas de *S. aureus* ($P=0,10$) figura 2A, assim como e partículas opsonizadas ($P=0,08$) figura 2B.

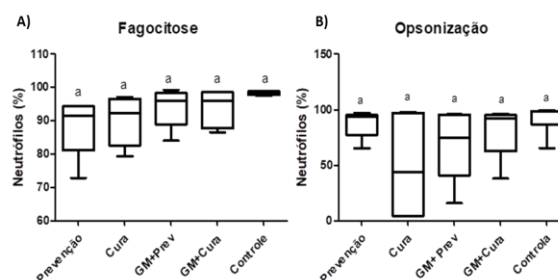


Fig.2: Comparação entre os grupos, fagocitose e opsonização.

Conclusão

Desse modo observamos que o protocolo vacinal não induziu uma resposta de anticorpos capaz de potencializar a capacidade fagocítica de neutrófilos desafiados com *S.aureus* opsonizados ou não.

Referências Bibliográficas

- BLAGITZ, M.G.; SOUZA, F.N.; BATISTA, C.F.; AZEVEDO, L.F.F.; SANCHEZ, E.M.R.; DINIZ, S.A.; SILVA, M.X.; HADDAD, J.P.A.; DELLA LIBERA, A.M.M.P. Immunological implications of bovine leukemia virus infection. *Research in Veterinary Science*, v.114, p.109-116, 2017.
- CUNHA, A. F., ANDRADE, H. M., SOUZA, F. N. JUNIOR, L. C. F., ROSA, D. L. S. O., SANCHEZ, E. R. M., GIDLUND, M., GOTO, H., BRITO, M. A. V. P., GUIMARÃES, A. S., LAGE, A. P., REIS, L. C., DELLA LIBERA, A. M. M. P., HEINEMANN, M. B., CERQUEIRA, M. O. P. Comparison of antibody repertoires against *Staphylococcus aureus* in healthy and infected dairy cows with distinct mastitis history and vaccinated with a polyvalent mastitis vaccine. *Journal of Dairy Science*, submetido para publicação.
- PAAPE, M., BANNERMAN, D. D., ZHAO, X., & LEE, J.-W. The bovine neutrophil: Structure and function in blood and milk. *Veterinary Research*, 34(5), 597–627. 2003. <https://doi.org/10.1051/vetres:2003024>

Evaluation of neutrophil phagocytic capacity of mice vaccinated with recombinant *Staphylococcus aureus* proteins predictive of cure and prevention of mastitis associated or not with granulocyte and macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)

Yasmin Vieira Franklin¹, Kamila Reis Santos¹, Fernando Nogueira de Souza¹, Alice Maria Melville Paiva Della Libera¹

School of Veterinary Medicine and Animal Science-USP¹

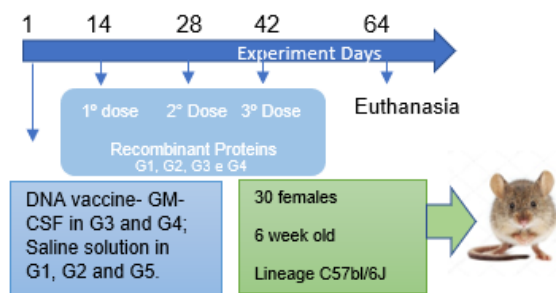
yasmin.franklin@usp.br

Objectives

Evaluate the effect of opsonization on phagocytic capacity of neutrophils challenged with *S.aureus* after vaccination protocol in murine with recombinant proteins of *S.aureus* (PR) with potential for cure and prevention mastitis.

Materials and Methods

The experimental groups were divided into G1 (prevention protein), G2 (cure protein), G3 (prevention protein + DNA vaccine), G4 (cure protein + DNA vaccine) and G5 (control). Animals G3 and G4 received 10 µg of DNA vaccine for GM-CSF, and 20 µg of each recombinant protein as shown in figure 1. The control group received 25 µg of the adjuvant diluted in PBS solution.



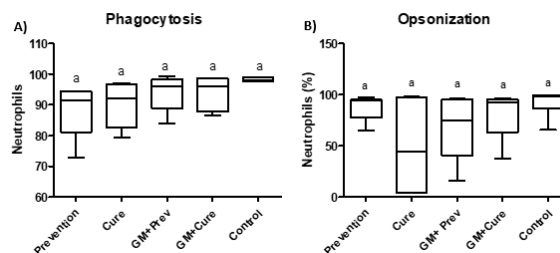
Picture 1: Experiment schedule

After euthanizing the animals, blood was collected to perform the phagocytosis ability test and neutrophil opsonization by flow cytometry. (Blagitz et al., 2017). Data distribution was analyzed using the Shapiro-Wilk test. Parametric data were analyzed by ANOVA, followed by Tukey's test. Nonparametric data were compared using the

Kruskal-Wallis test, followed by the Dunn's test. We considered data with $P \leq 0.05$.

Results

There were no differences between groups when comparing the percentage of neutrophils that phagocytized *S. aureus* particles ($P = 0.10$) figure 2A, as well as and opsonized particles ($P = 0.08$) figure 2B.



Picture 2: Comparison between groups, phagocytosis and opsonization.

Conclusions

Thus, we observed that the vaccination protocol did not induce an antibody response capable of potentiating the phagocytic capacity of neutrophils challenged with opsonized or not *S.aureus*.

References

- BLAGITZ, M.G.; SOUZA, F.N.; BATISTA, C.F.; AZEVEDO, L.F.F.; SANCHEZ, E.M.R.; DINIZ, S.A.; SILVA, M.X.; HADDAD, J.P.A.; DELLA LIBERA, A.M.M.P. Immunological implications of bovine leukemia virus infection. *Research in Veterinary Science*, v.114, p.109-116, 2017.
- CUNHA, A. F., ANDRADE, H. M., SOUZA, F. N. JUNIOR, L. C. F., ROSA, D. L. S. O., SANCHEZ, E. R. M., GIDLUND, M., GOTO, H., BRITO, M. A. V. P., GUIMARÃES, A. S., LAGE, A. P., REIS, L. C., DELLA LIBERA, A. M. M. P., HEINEMANN, M. B., CERQUEIRA, M. O. P. Comparison of antibody repertoires against *Staphylococcus aureus* in healthy and infected dairy cows with distinct mastitis history and vaccinated with a polyvalent mastitis vaccine. *Journal of Dairy Science*, submetido para publicação.
- PAAPE, M., BANNERMAN, D. D., ZHAO, X., & LEE, J.-W. The bovine neutrophil: Structure and function in blood and milk. *Veterinary Research*, 34(5), 597-627. 2003. <https://doi.org/10.1051/vetres:2003024>