

DESENVOLVIMENTO DE UM IMUNÓGENO CONTRA *HAEMONCHUS CONTORTUS* EM OVINOS

TAMIRES SILVA DOS SANTOS¹; PEDRO MACHADO MEDEIROS DE ALBUQUERQUE²; NATÁLIA MACHADO RAHAL³; FELIPE GERALDO PAPPEN⁴; RODRIGO CASQUERO CUNHA⁵

¹*Universidade Federal de Pelotas – myres_santos@hotmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – albuquerque95pedro@gmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – rahal.natalia@gmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – felipepappen@gmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – rodrigocunha_vet@hotmail.com*

1. INTRODUÇÃO

As enfermidades parasitárias estão entre as mais relevantes na ovinocultura, sendo *Haemonchus contortus* um dos nematoídes gastrintestinais de maior importância, responsável por expressivos prejuízos econômicos (AUBEL et al., 2025). Os impactos diretos na produção incluem a redução no ganho de peso, menor rendimento de carcaça e, em casos severos, a mortalidade dos animais. Esses impactos, somados aos custos com tratamentos, podem acarretar perdas financeiras alcançando cerca de R\$120 por animal/ano (OLIVEIRA et al., 2017; SILVA et al., 2019; EHSAN et al., 2020). O controle parasitário é predominantemente baseado na administração de anti-helmínticos sintéticos devido à facilidade de aplicação, ao baixo custo e à ausência de alternativas efetivas (JULIENNE et al., 2021). Contudo, o uso inadequado desses produtos tem favorecido a geração de populações resistentes de parasitos, apresentando um desafio para a sustentabilidade da produção animal em escala global (BASSETTO et al., 2014; SILVA et al., 2019).

Como agravante desse cenário, o uso de anti-helmínticos gera preocupações relacionadas a presença de resíduos nos tecidos animais, podendo comprometer a qualidade do produto e reduzindo seu valor comercial (SILVA, 2016). Diante desses desafios, o desenvolvimento de vacinas contra *H. contortus* surge como alternativa estratégica e sustentável ao controle químico.

Entre as formulações disponíveis, a Barbervax®, utilizada na Austrália e na África do Sul, demonstrou eficácia na redução da carga parasitária, da oviposição e da eclosão. No entanto, por ser formulada a partir da purificação de抗ígenos nativos (H11 e complexo H-gal-GP), seu processo de produção é oneroso e exige reforços vacinais frequentes para manter a imunidade. Como alternativa, as vacinas recombinantes baseadas na prospecção de alvos estratégicos representam uma abordagem promissora para aumentar a eficácia e reduzir os custos de produção. (MATOS et al., 2017; EHSAN et al., 2020; ADDUCI et al., 2022).

O sucesso de uma vacina, contudo, é influenciado pela alta variabilidade genética entre os isolados do parasito e pela diversidade na resposta imune dos hospedeiros. Esses fatores reforçam a necessidade de identificar抗ígenos capazes de induzir uma resposta protetora ampla e duradoura (ADDUCI et al., 2022). Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo a prospecção e análise *in silico* de potenciais抗ígenos de *H. contortus*, com ênfase na seleção racional de alvos proteicos da fase parasitária e avaliação de seu potencial imunogênico como base para o desenvolvimento de uma nova vacina recombinante.

2. METODOLOGIA

A seleção dos alvos vacinais foi direcionada por uma estratégia multifatorial, visando identificar proteínas potencialmente envolvidas na sobrevivência e no parasitismo de *H. contortus*. Inicialmente, foram priorizadas proteínas com abundância ou expressão diferencialmente elevada nas fases parasitárias (larvas L4 e adultos) em comparação com as fases de vida livre, com base em perfis de expressão gênica disponíveis no banco de dados WormBase (BioProject PRJEB506). As sequências deduzidas das proteínas selecionadas foram obtidas a partir dos bancos de dados NCBI GenBank e UniProt.

Foi adotada uma abordagem de consenso para o mapeamento de epítopos lineares de células B, empregando três algoritmos distintos: BCPred (EL-MANZALAWY; DOBBS; HONAVAR, 2008), configurado com um comprimento de 14 aminoácidos e 75% de especificidade; ABCPred (SAHA; RAGHAVA, 2006) com comprimento de 14 aminoácidos e limiar de 0,8; e BepiPred-3.0 (CLIFFORD et al., 2022), selecionando sequências com seis ou mais aminoácidos acima do limiar de 0,5. Sequências identificadas como epítopos putativos por, no mínimo, dois dos três algoritmos foram selecionadas para a etapa seguinte como critério de triagem. Subsequentemente, estes epítopos de consenso foram submetidos a uma análise de antigenicidade utilizando o servidor VaxiJen (modelo "parasita") (DOYTCHINOVA; FLOWER, 2007) que os classificou com base em suas características físico-químicas para selecionar aqueles com maior probabilidade de serem reconhecidos pelo sistema imune do hospedeiro.

Por razões de proteção intelectual e de patente, as sequências específicas dos epítopos que passaram pelo processo de triagem não são detalhadas neste trabalho.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A triagem racional e *in silico* resultou na seleção de quinze epítopos que foram projetados em uma construção quimérica multiepítopos "Hc15". A sequência final contendo 291 aminoácidos e com massa molecular predita de aproximadamente 32 kDa foi otimizada para códon usage de *Escherichia coli* e inserida no plasmídeo de expressão pET28-a (+) para posterior síntese pela empresa GenOne. O tamanho da construção foi projetado para favorecer a expressão solúvel do antígeno, uma característica que simplifica o processo de purificação e evita etapas custosas envolvendo a recuperação de corpúsculos de inclusão (FRANCIS; PAGE, 2010).

Esta estratégia foi empregada de maneira a contornar uma problemática central na imunização de parasitos. Antígenos naturalmente reconhecidos pelo sistema imune, como as proteínas ES-15 e ES-24, demonstraram potencial promissor para imunização, porém, a expressão recombinante de antígenos nativos íntegros é um desafio devido a diferentes maquinarias celulares entre diferentes organismos como helmintos e bactérias. A produção de alvos como H11 e H-gal-GP por meio de tecnologia de DNA recombinante frequentemente resulta em proteínas com conformação estrutural inadequada e deficiências em modificações pós-traducionais, como a glicosilação. Como consequência, a

imunogenicidade e a eficácia protetora dessas versões recombinantes são inferiores às observadas com os extratos antigênicos nativos (EHSAN et al., 2020; ADDUCI et al., 2022).

A projeção da quimera Hc15, baseada em múltiplos epítopenos lineares, torna o produto menos dependente de uma estrutura complexa, buscando contornar essas limitações, aumentando a possibilidade de se obter uma construção vacinal funcional e economicamente sustentável para produção em larga escala.

4. CONCLUSÕES

O desenho racional e a prospecção *in silico* de antígenos possibilitou a projeção da construção vacinal multiepítopeno Hc15, uma candidata promissora para superar os desafios de produção e eficácia associados a antígenos recombinantes complexos de *H. contortus*. A Hc15 representa um avanço na busca por uma vacina que seja, ao mesmo tempo, eficaz e economicamente viável. As próximas etapas consistirão na sua validação experimental para avaliar o potencial imunogênico e protetor em ensaios *in vitro* e *in vivo*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDUCI, I. et al. **Haemonchosis in Sheep and Goats, Control Strategies and Development of Vaccines against *Haemonchus contortus***. *Animals*, Basel, v. 12, n. 18, p. 2339, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani12182339>. Acesso em: 12 ago. 2025.

AUBEL, S. M. et al. Doenças diagnosticadas em ovinos no Sul do Rio Grande do Sul: um estudo de 48 anos. **Observatorio de la economía latinoamericana**, v. 23, n. 4, p. e9451, 2 abr. 2025.

BASSETTO, C. C. et al. Attempts to vaccinate ewes and their lambs against natural infection with *Haemonchus contortus* in a tropical environment. **International Journal For Parasitology**, [S.L.], v. 44, n. 14, p. 1049-1054, dez. 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002075191400191X?via%3Dihub>>. Acesso em: 15 ago. 2025.

CLIFFORD, J. et al. BepiPred-3.0: Improved B-cell epitope prediction using protein language models. **Protein Science**, v. 31, n. 12, 10 nov. 2022.

DOYTCHINOVA, I. A.; FLOWER, D. R. VaxiJen: a server for prediction of protective antigens, tumour antigens and subunit vaccines. **BMC Bioinformatics**, v. 8, n. 1, 5 jan. 2007.

EHSAN, M. et al. Advances in the development of anti-*Haemonchus contortus* vaccines: challenges, opportunities, and perspectives. **Vaccines**, v. 8, n. 3, p. 555, 22 set. 2020.

EL-MANZALAWY, Y.; DOBBS, D.; HONAVAR, V. Predicting linear B-cell epitopes using string kernels. **Journal of molecular recognition: JMR**, v. 21, n. 4, p. 243–255, 2008.

FRANCIS, D. M.; PAGE, R. Strategies to optimize protein expression in *E. coli*. **Current protocols in protein science**, v. Chapter 5, n. 1, p. Unit 5.24.1-29, 1 ago. 2010.

JULIENNE, K. et al. Prevalence, effects and alternative control methods of *Haemonchus contortus* in small ruminants: A review. **Journal of Veterinary Medicine and Animal Health**, v. 13, n. 2, p. 84–97, 30 abr. 2021.

MATOS, A. F. I. M. DE et al. Attempt to control *Haemonchus contortus* in dairy goats with Barbervax ®, a vaccine derived from the nematode gut membrane glycoproteins. **Small Ruminant Research**, v. 151, p. 1–4, jun. 2017.

OLIVEIRA, P. A. et al. Doenças parasitárias em bovinos e ovinos no sul do Brasil: frequência e estimativa de perdas econômicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 8, p. 797–801, ago. 2017.

SAHA, S.; RAGHAVA, G. P. S. Prediction of continuous B-cell epitopes in an antigen using recurrent neural network. **Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics**, v. 65, n. 1, p. 40–48, 7 ago. 2006.

SILVA, Cláudio José Araújo da. **Quantificação de resíduos de medicamento anti-helmíntico nas fezes de cordeiros em ambiente pastoril**. 2016. 81 f. Relatório (Pós-Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Curitiba, 2016. Coordenadora: Alda Lúcia Gomes Monteiro

SILVA, G. M. F. et al. *Haemonchus contortus* em ovinos e caprinos. **Pubvet**, v. 13, n. 9, p. 1–4, set. 2019. Disponível em: <<https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/764>>. Acesso em 11 ago. 2025.