



### **Sistema complemento no curso da sepse em *Piaractus mesopotamicus* infectados com *Aeromonas hydrophila***

Eliana Torres Do Nascimento, Vivian Cristian De Freitas Lima, Kizan Sávio Bentes Viana, Fabrizia Sayuri Otani e Gustavo da Silva Claudiano

O Sistema Complemento é um dos principais mecanismos de defesa inespecífica do plasma. O papel do complemento na sepse na literatura é controverso e carente em teleósteos. Assim, esse trabalho visou avaliar a atividade do sistema complemento pela via clássica e alternativa na evolução da reposta séptica induzida por *Aeromonas hydrophila* em *Piaractus mesopotamicus*. Para tanto, foram utilizados 50 pacus, divididos em dois grupos, um deles recebeu 0,5 mL de solução de cloreto de sódio esterilizada a 0,65% (controle) e outro recebeu o mesmo volume contendo o inóculo bacteriano (desafio). A sepse foi induzida pela inoculação celomática de 0,5 mL a  $1,8,06 \times 10^8$  UFC/mL, por animal (correspondente DL50%). Para as avaliações, os peixes (n=10 / tempo) foram mortos por aprofundamento anestésico nos tempos de 1, 3, 6 e 9 horas pós-infecção (HPI) e o grupo controle. Para avaliação da atividade hemolítica do sistema complemento pela via alternativa (SCA) foi utilizada uma suspensão de eritrócitos de coelhos, cuja preparação utilizará uma alíquota de sangue total, adicionado o mesmo volume do agente quelante TEA-EDTA (trietanolamina – ácido etileno diaminotetracético) 10 mM, pH 7,4 e gelatina 0,1%. Esta solução foi incubada por 15 minutos, a 37 ° C e, posteriormente, centrifugada a 1.200 x g, por 10 min, a 4 ° C, para preparo dos eritrócitos. Para avaliação da atividade hemolítica do sistema complemento pela via clássica (SCC) a preparação da suspensão de eritrócitos revestidos com anticorpo (EA), as hemácias de carneiro foram lavadas três vezes com diluente de fixação do complemento (CFD) /gel 0,1%, centrifugada a 700 x g a temperatura ambiente. Em seguida, a suspensão de hemácias de carneiro foi revestida com anticorpo anti-estroma de eritrócito de carneiro (hemolisina) produzido em coelho e titulada para o ensaio hemolítico (1:100). A determinação da atividade hemolítica SCC foi realizada por ensaio cinético em espectrofotômetro de placa. Pela metodologia empregada a avaliação SCA causou a hemólise nas hemácias de coelho, evidenciando a atividade pela ativação do complexo de ataque a membrana (MAC) no soro dos pacus. No entanto, não houve diferença ( $p>0,05$ ) na análise temporal SCA na sepse. Da análise da atividade lítica SCC não foi verificada hemólise das hemácias dos carneiros, possivelmente pela utilização da IgM de mamífero que não ativou C3. Conclui-se ser necessário mais estudos para análise do sistema complemento da sepse em pacus e a utilização de anticorpos de peixes para análise da SCC.