

TESTE DE IMUNIZAÇÃO E DESAFIO SOB CONDIÇÕES DE CAMPO DE VACINA RECOMBINANTE HEMOTICK CONTRA CARRAPATOS

JAQUELINE DE DEOS SILVEIRA¹; SERGIO SILVA DA SILVA², PEDRO ALBUQUERQUE³, FABIO LEIVAS LEITE⁴, CARLOS EUGÊNIO SILVA⁵, RODRIGO CASQUERO CUNHA⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas – e-mail do autor jaquededeos@gmail.com

² Hemotick Indústria e Comércio – hemotickinduscom@gmail.com

³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul - albuquerque95pedro@gmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – fleivasleite@gmail.com

⁵ Universidade Federal do Rio Grande do Sul - ceusilvaster@gmail.com

⁶ Universidade Federal de Pelotas – rodrigocunha_vet@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O carrapato *Rhipicephalus micropolus* é um ácaro do filo artrópoda, monoxeno e parasito de bovinos. As infestações por carrapatos *R. micropolus*, distribuem-se no mundo entre os paralelos 32° de latitude norte e 32° de latitude sul, com maior prevalência em áreas tropicais diminuindo no sentido das áreas sub tropicais. No Brasil é considerado endêmico a exceção de poucas regiões de diferentes biomas ao sul abaixo do paralelo 32° de latitude sul praticamente inexistente nos municípios de Santa Vitória do Palmar e Chuí ANDREOTTI et al. (2019).

Os carrapatos são importantes ectoparasitas de animais domésticos e selvagens, e as infestações de carrapatos impactam economicamente a produção de gado em todo o mundo. O controle das infestações de carrapatos em bovinos tem sido principalmente pela aplicação de acaricidas, o que pode resultar na seleção de carrapatos resistentes ao princípio ativo e subsequente poluição ambiental (DE LA FUENTE et al., 2007).

A resistência às drogas carrapaticidas apresenta ampla distribuição no Rio Grande do Sul, com alto grau de risco de dispersão pelo crescente trânsito legal entre propriedades de produção pecuária da SILVA et al. (2014).

Neste cenário temos o desenvolvimento de estratégias artificiais pelo emprego de vacinas recombinantes usando proteínas candidatas oriundas de intestino, glândula salivar e ovário dos carrapatos, além de enzimas metabólicas CSORDAS (2019). Atualmente no Brasil ainda não existe vacina recombinante nacional e disponível comercialmente.

O presente trabalho tem por objetivo apresentar os dados parciais do antígeno recombinante Ag, obtidos na etapa de testes sob condições de campo.

2. METODOLOGIA

Foram selecionadas 20 fêmeas Aberdeen Angus “tick naive” de 6 meses de idade com peso vivo médio de 170 kg em propriedade livre de carrapatos e hematozoários sob condições de manejo de campo melhorado com suplementação de ração concentrada e feno, em Santa Vitória do Palmar. Após a seleção os animais

foram transferidos para o Contract Research Organization CRO Animal Science no município de Turuçu RS.

Os animais foram randomizados em 2 grupos: Controle-Grupo Branco recebeu solução salina 0,85% do dia 0 até o Dia de Estudo 361, Teste- Grupo Verde do Dia de Estudo 0 até o 284 recebeu 100µg Antígeno recombinante HMT; Grupo Verde no Dia de Estudo 361 recebeu 200µg Antígeno recombinante HMT.

Os 20 bovinos foram transferidos para o C.R.O. Animal Science em Turuçu, RS, aos 280 DE (Dias de Estudo), para as etapas de desafio com larvas de carrapatos sob condições de campo.

Os animais foram submetidos ao primeiro desafio sob condições de estabulação com duas infestações de baixa intensidade de 250 larvas de *R. microplus* da cepa Porto Alegre em dias alternados, totalizando 500 larvas por bovino.

A partir desta infestação sob condições de estábulo, foram incubadas as teleóginas de acordo com o grupo de animais, [Grupo BR (branco), VD (verde)] obtidas posturas e posteriormente obtidas larvas de carrapatos, ou seja, a “Primeira Geração de Larvas” (*F1*) oriundas de teleóginas submetidas aos diferentes tratamentos de imunização (BR – Placebo; VD – *Ag rec HMT* sem adjuvação).

Os animais após o desafio sob condições de estábulo foram mantidos sob condições de campo em área endêmica de carrapatos, porém com baixo potencial de infestação em condições naturais devido às condições climáticas desfavoráveis, ou seja, alta pluviosidade e baixas temperaturas.

Os bovinos foram contidos e realizadas duas infestações de média intensidade de 1.500 larvas da cepa Porto Alegre em dias alternados diretamente no dorso de cada animal, totalizando 3.000 larvas da *F1* por bovino, respectivamente de cada grupo. de animais. Ou seja, larvas de teleóginas produzidas no Grupo BR voltaram infestando os mesmos bovinos do Grupo BR; larvas de teleóginas produzidas no Grupo VD voltaram infestando bovinos do Grupo VD.

No 18º Dia Após a Infestação (D.A.I.) os animais foram encerrados em baias individuais no estábulo para coleta de todos os carrapatos ingurgitados desprendidos naturalmente após esta etapa foram levados para o laboratório para contagem do número total de carrapatos, pesagem do total de teleóginas e posteriormente acondicionadas em placas e incubadas em estufa B.O.D a 26 °C e Umidade de 80%. Toda a massa de ovos da postura é recolhida e pesada (Peso da Massa de Ovos) acondicionada em seringas para incubação em estufa BOD a 26 °C e Umidade de 80% para obtenção de larvas e posterior cálculo da eclodibilidade (Índice de Eclodibilidade dos Ovos).

Esse projeto está cadastrado na pró-reitoria de pesquisa da UFPEL (processo nº 23110.004889/2015-47) e aprovado pela comissão e ética e experimentação animal (CEEA nº: 4889-2015) dessa instituição.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos durante o Desafio com Larvas de Carrapatos sob condições de campo, demonstraram a diminuição na média das teleóginas desprendidas por animal por dia no grupo imunizado quando comparado ao grupo controle. a seguir relacionados ao número de carrapatos desprendidos em baias individuais durante o período de queda natural pela infestação, peso dos carrapatos, peso da massa de ovos e percentual de eclodibilidade da massa de ovos

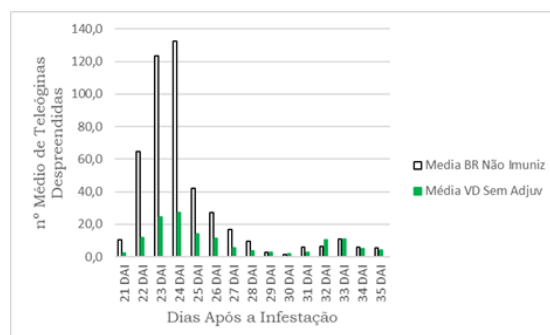


Figura 1 Queda média de Teleóginas por por dia por animal grupo controle e no grupo de bovinos imunizados com Ag HMT infestados com 3.000 larvas de carrapatos *R.B. microplus*, 2024 (n= 12).

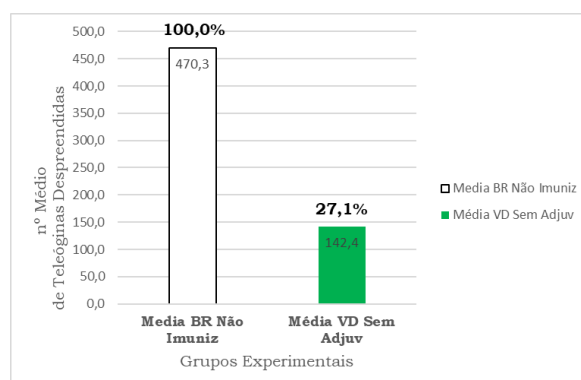


Figura 2 Queda média de Teleóginas por grupo de bovinos controle e imunizados com Ag rec HMT, infestados com 3.000 larvas de carrapatos *R.B. microplus* 2024 (n=12)

O parâmetro, queda de teleóginas, apresentado nas figuras 1 e 2 evidenciam a capacidade protetora do antígeno Ag HMT a diferença entre o grupo controle e grupo imunizado já aparecem discrepantes desde o 21 DAI (Dia Após Imunização) coincidindo com GARCÍA-GARCÍA et al. (2000) e PARIZI et al. (2012).

4. CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos até o presente momento ficou evidenciada a eficácia da vacina sem adjuvante, com potencial para tornar-se uma alternativa viável e sustentável aos métodos tradicionais de controle de carrapatos, como por exemplo acaricidas químicos. Os estudos sob condição de campo seguem em fase experimental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

ANDREOTTI, R: Performance of two Bm86 antigen vaccine formulation against tick using crossbreed bovines in stall test. Rev Bras Parasitol Vet 15 (3), 97–100 (2006)

ANDREOTTI, R., VALÉRIO, M., & FERNANDO PAIVA, G. (n.d.). Carrapatos com importância em Saúde Única e produção animal no Brasil. www.embrapa.br/fale-conosco/sac

BLECHA, I. M. Z., CSORDAS, B. G., AGUIRRE, A. de A. R., CUNHA, R. C., GARCIA, M.V., & ANDREOTTI, R. (2018). Analysis of Bm86 conserved epitopes: Is a global

vaccine against cattle tick *Rhipicephalus microplus* possible? *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 27(3), 267–279. <https://doi.org/10.1590/s1984-296120180056>

CSORDAS, B. G. (2019). Seleção de Antígenos Candidatos à Vacina Contra Carrapatos. Tese de Doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias Fundação Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

CUNHA, R. C., LEITE, F. P. L., ANDREOTTI, R.. Vacinas contra o carrapato-do-boi no Brasil. In: Renato Andreotti; Wilson Werner Koller. (Org.). Carrapatos no Brasil. Biologia, Controle e Doenças Transmitidas. 1ed.Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2013, v. 1, p. 105-118.

CUNHA, R. C.; AGUIRRE, A. A. R. ;LEITE, F. P. L.; Andreotti, R.. Protocolos para o Desenvolvimento de Antígenos para Vacinas contra o Carrapato-do-boi. In: Renato Andreotti; Wilson Werner Koller; Marcos Valério Garcia. (Org.). Carrapatos protocolos e técnicas para estudo. 1ed.Campo Grande: EMBRAPA, 2016, v. 1, p. 1-27.

Garcia-Garcia JC, Montero C, Redondo M, Vargas M, Canales M, Boue O, et al. Control of ticks resistant to immunization with Bm86 in cattle vaccinated with the recombinant antigen Bm95 isolated from the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Vaccine* 2000; 18:2275–87.

PARIZI, L. F., RECK, J., OLDIGES, D. P., GUIZZO, M. G., SEIXAS, A., LOGULLO, C., de OLIVEIRA, P. L., TERMIGNONI, C., MARTINS, J. R., & da SILVA VAZ, I. (2012). Multi-antigenic vaccine against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: A field evaluation. *Vaccine*, 30(48), 6912–6917. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.08.078>

SILVA da SILVA, S. (2014). Perspectivas atuais e futuras do controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e dos agentes por eles transmitidos na bovinocultur. Tese de Doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Vetrinária na Universidade Federal De Pelotas

VARGAS M, MONTERO C, SÁNCHEZ D, PÉREZ D, VALDÉS M, ALFONSO A, et al. Two initial vaccinations with the Bm86-based Gavacplus vaccine against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* induce similar reproductive suppression to three initial vaccinations under production conditions. *BMC Vet Res* 2010; 6:43.