

## Padronização de metodologia de salivação de carrapatos para estimulação celular *in vitro* <sup>1</sup>

Ana Flávia Silva Heleno<sup>2</sup>, Thiago de Almeida Oliveira<sup>3</sup>, Raquel Morais de Paiva<sup>3</sup>, Michelle de Souza Muniz<sup>5</sup>, John Furlong<sup>5</sup>, Marta Fonseca Martins<sup>5</sup>, Marco Antônio Machado<sup>5</sup>, Wanessa Araújo Carvalho<sup>5, 6</sup>

<sup>1</sup> O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil: Parte dos projetos CNPq nº472578/2013-8 - Identificação de vias moduladoras da resposta imune inata: modulação da atividade de complemento e proteínas de fase aguda em hepatócitos bovinos e nº 471864/2013-7 - Sequenciamento em massa de RNA de alto desempenho (RNAseq) para determinação de alvos terapêuticos para controle do carrapato bovino (*Rhipicephalus microplus*) liderado por Wanessa Araújo Carvalho.

<sup>2</sup>Graduanda em Farmácia – UFJF/ Juiz de Fora. e-mail: anafsh@hotmail.com

<sup>3</sup>Mestrando em Ciências Biológicas – UFJF/Juiz de Fora.

<sup>4</sup>Doutoranda em Ciências Biológicas – UFJF/Juiz de Fora.

<sup>5</sup>Embrapa Gado de Leite.

<sup>6</sup>Orientadora

**Resumo:** A pecuária brasileira é dependente da manutenção da saúde bovina, sendo a incidência de doenças infectocontagiosas responsável pela diminuição da rentabilidade deste setor. Dessa forma, alternativas não poluentes e sustentáveis para o controle da infestação por carrapatos *Rhipicephalus (B.) microplus* são almejadas. A complexa interação entre o parasito e seus hospedeiros é mediada principalmente por moléculas imunomoduladoras secretadas na saliva do carrapato. Para avaliar esse efeito imunomodulador foi necessário o desenvolvimento de técnicas de estimulação da salivação do carrapato *R. microplus*. A coleta dos parasitos ocorreu no Campo Experimental de José Henrique Bruschi (CEJHB) e arredores, e a salivação realizou-se com a aplicação de solução alcoólica de pilocarpina. Após coleta da saliva, a dosagem de proteínas foi padronizada através do método de Bradford e o perfil proteico foi avaliado em gel de poliacrilamida de gradiente pré-fabricado Amersham ECL Gel 8-16%. Dentre os diversos métodos testados, o protocolo estabelecido prevê o aumento de umidade com lavagem dos parasitos e aplicação de volume fixo (5µL) de pilocarpina alcoólica 5%. Foi coletado um volume total de 5mL (1254mg/mL) que foi armazenado em alíquotas para futuros testes *in vitro* com hepatócitos e macrófagos. A avaliação da esterilidade da saliva foi constatada por plaqueamento da amostra em meio de cultura DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle's medium*).

**Palavras-chave:** Bovinos, carrapatos, imunomodulação, proteínas, *Rhipicephalus (B.) microplus*, saliva