

TITULO: CARACTERIZAÇÃO DE RESPOSTA IMUNE A UM PEPTÍDEO SINTÉTICO DA PROTEÍNA ATAG DE RHIPICEPHALUS MICROPLUS DESENVOLVIDO POR VACINOLOGIA REVERSA E LIGAÇÃO CRUZADA DE ANTICORPOS COM EXTRATO PROTEICO DE INTESTINO DE RHIPICEPHALUS SANGUINEUS

AUTOR(ES): ANDRÉ DE ABREU RANGEL AGUIRRE, FRANCISCO PEREIRA LOBO, MARCOS VALÉRIO GARCIA, LEANDRA MARLA OSHIRO, RODRIGO CASQUERO CUNHA, VINICIUS DA SILVA RODRIGUES, RENATO ANDREOTTI,

PALAVRAS-CHAVES: Febre Maculosa Brasileira; Rhipicephalus sanguineus; controle imunológico; vacinologia reversa; ATAG; peptídeo sintético

RESUMO:

INTRODUÇÃO A Febre Maculosa Brasileira (FMB), doença causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii*, é grave para seres humanos, possuindo baixa morbidade, mas alta letalidade, o que lhe confere importância em saúde pública. Já foi relatada a presença deste agente no carrapato do cão, o *Rhipicephalus sanguineus*, que pode parasitar eventualmente seres humanos, sendo este também um possível vetor. A principal medida de controle da FMB é pelo controle de seu vetor. Vacinas contra carrapatos vem ganhando destaque nas últimas décadas para contornar problemas com resistência ao método químico. Ferramentas de bioinformática contribuem com a forma como são preditos novos antígenos para vacinas, e aqui utilizamos desta estratégia para iniciar pesquisas para o controle imunológico do carrapato do cão, o *Rhipicephalus sanguineus*. MATERIAL E MÉTODOS Foram executados diversos algoritmos afim de se prever características imunogênicas da proteína ATAG, de *R. microplus*. Dentre as características analisadas, foram incluídas informações de antigenicidade como a predição de: epítopos lineares para receptores de células B (Bepipred); regiões extracelulares, pela identificação de peptídeo sinal, hélices transmembranas (tmhmm Server 2.0) e presença de terminal Glicofosfatidilinositol; regiões intrinsecamente desordenadas (IUPred); probabilidade da sequência de aminoácidos ser exposta à superfície da estrutura terciária da proteína (Emini Surface Accessibility Scale); regiões ligantes de MHC II (ProPred). Também foi realizado o alinhamento da ATAG entre diversas espécies do gênero *Rhipicephalus* (ClustalW2), afim de encontrar uma região conservada, para que este peptídeo seja capaz de desencadear uma resposta imune contra ATAGs de distintas espécies deste gênero. O peptídeo foi sintetizado pela Mimotopes (Melbourne, Austrália) conjugado ao carreador KLH. Dois grupos de três coelhos cada foram inoculados com três doses com 15 dias de intervalo, via intramuscular, com adjuvante Montanide (Seppic, Paris), sendo um grupo controle (PBS e adjuvante) e o outro com o peptídeo. Soros dos coelhos foram obtidos nos dias 0 e 60 após a primeira dose para a realização de Dot Blot, contendo o peptídeo puro, extrato proteico de intestino de *R. microplus* e *R. sanguineus*, como antígenos adsorvidos na membrana de Nitrocelulose. RESULTADOS As análises de bioinformática resultaram em um peptídeo de 17 aminoácidos que compartilhou todas as características analisadas. As análises feitas pelo Dot Blot indicaram que além de os soros de coelhos imunizados reconhecerem o peptídeo puro e o extrato proteico de intestino de *R. microplus*, reconheceram também o extrato proteico de *R. sanguineus*, o que indica que essa espécie de carrapato expressa uma proteína ATAG ortóloga e possui uma região com conservação o suficiente para permitir a ligação de anticorpos contra uma proteína ortóloga. CONCLUSÃO A vacinologia reversa deve ser considerada no desenvolvimento de vacinas contra carrapatos vetores da FMB.