

1099

ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL DE *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787) (ACARI: IXODIDAE) ATRAVÉS DE MEMBRANA DE SILICONE

DE MOURA, S.T.¹; FONSECA, A.H.²; FERNANDES, C.G.N.¹

¹ UFMT, Av. Fernando Corrêa da Costa, s/nº Coxipó, Cuiabá-MT, 78060-900

² UFRRJ - Antiga Rio-São Paulo, Km 47 - Município de Seropédica - RJ.

RESUMO

Foi utilizado um sistema da alimentação artificial através de membrana de silicone, empregado sangue bovino citratado como fonte alimentar para machos e fêmeas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787). Foram utilizados vestígios de sangue, suor, pêlos e descamação de pele como fago-estimulantes. Os carrapatos foram coletados como ninfas ingurgitadas em equinos naturalmente infestados, com a ecidise ocorrendo em laboratório. Utilizou-se 400 carrapatos, sendo 501 fêmeas, com três a quatro semanas pós-ecidise. A umidade do ar foi de 75% e a temperatura do sangue de $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Vestígios de sangue, isoladamente, foi o fago-estimulante mais eficiente; a associação vestígios de sangue mais resíduos de suor apresentou melhores resultados sobre os demais fago-estimulantes utilizados. Aspectos ligados ao comportamento alimentar, bem como formas de aperfeiçoamento do sistema de alimentação *in vitro*, também foram analisados.

1092

AMINO ACID SEQUENCE OF INTERNAL FRAGMENTS FROM THREE PROTEINS OF *Leptospira* SEROVAR *pomona*

ALVES, F.S.F., LEFEBVRE, R., PROBERT, W.

EMBRAPA-CNPC, C.P. 10, CEP 62.011-970 Sobral, CE, Brasil.

Initial attempts to determine the N-terminal sequence of the common detergent phase (Triton X-114) proteins from *Leptospira* serovar *pomona* failed, apparently due to N-terminal blocking. In order to obtain internal fragments for protein sequencing, enzymatic and chemical digestion was performed. The enzyme clostripain which cleaves at Arginine-C residues was used to digest the proteins of 32 and 45kDa. *In situ* digestion of 40kDa molecular weight protein was accomplished using cyanogen bromide (CNBr) which cleaves at methionine residues. The peptides were transferred from the gel to Immobilon PVDF or Pro-blot membrane. The prominent band of each digestion was excised and sequenced on a ABI 477 pulsed-liquid automated sequencer model. Enzymatic cleavage of 32 kDa protein generated two fragments, one of 21kDa (not sequenced) and another of 10kDa that yielded five residues of a amino acid sequence. A fragment of 24kDa was obtained from 45kDa protein that yielded nineteen residues of a amino acid. Chemical cleavage of the 40kDa protein generated a fragment with a molecular weight of 20kDa, yielding a twenty amino acid sequence. The knowledge of the amino acid sequence from these proteins provides useful information for the design of synthetic oligonucleotides that may allow identification of the genes encoding the 32, 40, and 45kDa proteins. Further elucidation as to the role of these proteins play in pathogenesis of *Leptospira* is necessary.

→ 28299

847

AN ELISA TEST TO DETECT ANTIBODIES IN MILK AGAINST THE CAPSULE OF *STAPHYLOCOCCUS* SP.

Adil Knackfuss Vaz*, Barbara Wilmore**

CAV/UEDESC, Caixa Postal 281, 88520-000 Lages, SC, Brazil

A freshly isolated *Staphylococcus aureus* strain, obtained from a cow with subclinical mastitis, was grown overnight at 37°C in Todd-Hewitt Broth containing 10% sheep milk whey. Capsular material was extracted by tumbling washed bacteria for two hours at 4°C with glass beads. The supernatant was applied to a PAGE gel, producing seven bands between 45 and 80 kDa. This antigen was diluted 1/100 and used to coat ELISA microtiter plates (FALCON, BBL). The coating was done using coating buffer, pH 9.6, for 2 hours at 37°C. Whole milk from cows having been identified as having subclinical mastitis or free from it on UFF basis of somatic cell counts and bacteriological examination was diluted 1/50 to 1/400 in doubling dilutions in antibody buffer containing 1% pig gelatin. One hundred ul of these dilutions were applied to the wells. Six cows with subclinical mastitis and six free from it were included in the test. The samples were a mixture of milk from the four quarters. The plate was incubated at 37°C for one hour, and washed 3 times in PBS-T. Peroxidase-conjugated rabbit anti-bovine immunoglobulins (DAKO) was diluted 1/5000 in antibody buffer and applied to the wells. The plates were again incubated for one hour at 37°C. OPD (SIGMA) diluted in substrate buffer and activated by the addition of hydrogen peroxide was added. The plates were incubated at the same temperature for 1/2 hour, and the reaction stopped by the addition of 50 ul of 2.5M sulphuric acid. The plate was then read at 492 nm. Results were expressed as direct Optical Density units. It was found that it is possible to separate infected from non-infected cows on the basis of the OD at the 1/200 dilution. Negative cows gave consistently readings of less than 0.5 OD. Positive animals always gave readings above that value, and as high as 0.8 OD.

* CAV/UEDESC

** Dept. of FAMS, The Royal Veterinary College, University of London

948

ANÁLISE DA PELE DO PINTADO (*Aeolopistyscus curruzeus*), CAPTURADO NO RIO MIRANDA (MS), ATRAVÉS DA MICROSCOPIA DE LUZ.

LOURADO, D.M.; SOLEA, M.L.R.; LEME DOS SANTOS, H.S.; MATOS, V.L. e COLETA, V.C.

Depto de Ciências Biológicas e da Saúde - CESUP, Av. Alexandre Herculano nº1400, Campo Grande, MS, Brasil.

O presente trabalho objetivou analisar a morfologia microscópica da pele do peixe couro, pintado (*Aeolopistyscus curruzeus*), capturado no rio Miranda (MS). Amostras obtidas das regiões dorsal, média, lateral e ventral, foram fixadas em solução de Bouin por 36 h, incluídas em parafina, cortadas com 5 µm de espessura e coradas pelas técnicas de hematoxilina-eosina e tricrômico de Masson. Os cortes secos obtidos foram analisados pela microscopia de luz, selecionados e fotografados em fotomicroscópio AxioPhot Zeiss. As três regiões, apresentaram uma epiderme fina, com muitas células clefviformes de formato irregular e de dimensão mediana. Estas células, a partir da camada intermediária da epiderme sofreram um achatamento progressivo em direção à superfície da pele. Na epiderme da região de linha lateral, foram encontradas muitas células mucosas, pequenas e de forma ovalada. Nas regiões dorsal e ventral elas apresentaram-se em número reduzido. Células basais cúbicas foram notadas em alguns locais da epiderme das três regiões analisadas. Entre a epiderme e a derme foi observada uma membrana basal. A derme mostrou-se dividida em duas camadas: uma superficial e outra profunda. Na camada superficial foram evidenciadas papilas conjuntivas de forma e tamanho bastante característicos. Grandes concentrações de melanóforos, dispostos de forma contínua, foram vistas nesta camada e nas proximidades da membrana basal, das regiões dorsal e linha lateral. A derme profunda, das regiões dorsal, linha lateral e ventral, apresentou um único padrão de orientação das fibras colágenas. Estas mostraram-se finas, onduladas e dispostas horizontalmente (paralelas à superfície da pele). Tais fibras, no entanto, apresentaram-se mais espessas e juntas, à medida, que se distanciavam da superfície. Entre a camada dérmica e o tecido muscular esquelético foi observada uma camada de pigmentação de cor parda e poucas concentrações de melanóforos. A espessura fina da epiderme; o grande número de células clefviformes, as células mucosas na região da linha lateral; as poucas células mucosas das regiões dorsal e ventral; a espessura da membrana basal; as concentrações contínuas de melanóforos nas proximidades da membrana basal e o único padrão de orientação das fibras colágenas nas três regiões analisadas, caracterizaram a pele do pintado (*Aeolopistyscus curruzeus*).