

IMUNOPROTEÇÃO DE BOVINOS CONTRA *Anaplasma marginale* E *Anaplasma centrale*, OBTIDOS POR CULTIVO *IN VITRO* EM CÉLULAS EMBRIONÁRIAS DE *Boophilus microplus*

Dall'Acqua, P. E. (1); Sobral, T. F. (1); Kessler, R. H. (2); Araújo, F. R. (2); Soares, C. O. (2). (1) Bolsista de Iniciação Científica do CNPq, pedall_acqua@yahoo.com.br; (2) Pesquisador, Embrapa Gado de Corte.

No Brasil, os bovinos são parasitados por *Boophilus microplus*, vetor biológico de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale*, causadores da tristeza parasitária bovina. O cultivo de células dos carrapatos pode tornar-se uma fonte, *in vitro*, para o desenvolvimento de vacinas contra o carrapato, e servir como substrato para o cultivo de *A. marginale* utilizando-o como potencial imunógeno contra anaplasmoses. As células utilizadas foram isoladas de ovos embrionários de *B. microplus*, mantidas em estufa a 28°C em meio LeibovitzL-15 suplementado com 20% de soro fetal bovino inativado, 10% de caldo triptose fosfato, 0,1% de albumina bovina, l-glutamina (290µg/ml) mais antibióticos: penicilina-estreptomicina (6.100 UI/ml) e gentamicina (50µg/ml). Nas infecções com *A. marginale*, utiliza-se sangue bovino com parasitemia ~5%. Utilizou-se dois tratamentos: sistema fechado e ambiente de microaerofilia, com ~5% CO₂, em duas temperaturas (28 e 34°C). Em cada tratamento, são cultivados dois frascos infectados mais dois controles não-infectados. As células estudadas derivam de quatro linhagens: culturas primárias 1, 3, 5 e 6. A cultura primária 1 (cp1.01) apresenta um desenvolvimento satisfatório, tendo seu tempo entre subcultivos de ~15 dias. As culturas cp3.04, cp5.04 e cp6.05 apresentam um crescimento mais lento, estando as cp3.04 e cp5.04 em seu 2º subcultivo, fato explicado pela necessidade de adaptação dessas células às condições *in vitro*, demandando tempo. Conquanto as infecções, realizaram-se três tentativas. As células não desenvolveram bem na temperatura de 34°C, apresentando degradações, alterando-se a temperatura para 30°C. Não houve diferença notável em relação aos ambientes fechado ou de microaerofilia. Quanto ao estabelecimento da riquetsia, as infecções ainda não foram bem sucedidas, visto que os testes empregados para a detecção (PCR, IFI) foram negativos. Tal insucesso pode ser devido ao meio de cultura não ser adequado ao estabelecimento de *A. marginale* ou por existirem isolados dessa riquetsia que não infectam células de carrapato. (Projeto financiado pelo CNPq e FUNDECT).