

DA INFESTAÇÃO POR *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* EM
ANIMAIS CRONICAMENTE INFECTADOS POR *Anaplasma marginale*

Janiele Webster^{1,2}; Ugo Araújo Souza^{1,2}; Ramon Scheffer^{1,2}; João Ricardo Martins¹

¹Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF), Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAAGRO), Eldorado do Sul, RS. ²Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). jose.reck@gmail.com

A anaplasmose, causada pela infecção por *Anaplasma marginale*, ocasiona grandes prejuízos à bovinocultura, sendo considerada, juntamente com a babesiose, como a principal causa infecciosa de mortalidade de bovinos no Rio Grande do Sul. Essa enfermidade é considerada uma doença zoonótica, podendo ser transmitida por artrópodos hematofagos como carrapatos e moscas; causando anemia severa nos animais acometidos. Os animais infectados podem manter-se como portadores crônicos (que servem como possíveis reservatórios) mesmo após a remissão dos sinais clínicos e do tratamento com antimicrobianos. Considera-se que pode haver a reativação da infecção e recrudescência dos sinais clínicos em animais imunocomprometidos, ou perante co-infecção com outros agentes. Neste contexto, a interação entre o vetor (o carrapato *R. microplus*), a bactéria e o bovino podem desencadear situações potenciais de desequilíbrio, que por sua vez, podem determinar progressão ou regressão da doença. O objetivo deste trabalho foi investigar se a infestação por uma cepa de *R. microplus* (livre de *Anaplasma* spp. e *Babesia* spp.) poderia alterar a parasitemia de bovinos cronicamente infectados por *A. marginale*. Para tanto 5 bovinos esplenectomizados foram inoculados com uma cepa virulenta de *A. marginale* e a parasitemia foi registrada. No dia 24 pós-infecção (p.i.), a parasitemia média alcançou 7,9% ± 0,9 e o hematócrito 16,7% ± 3. Neste mesmo dia todos os animais foram tratados com medicamento a base de tetraciclina. A parasitemia caiu até um valor mínimo de 0,63% ± 0,6 no dia 50 p.i. Nesta oportunidade, dois animais foram infestados com 20.000 larvas de *R. microplus* livres de *Anaplasma* spp. A parasitemia dos animais infestados e não-infestados foi acompanhada com intervalos de cinco dias até o dia 90 p.i. Neste período (entre os dias 50 e 90 p.i.) o grupo infestado apresentou em três momentos parasitemia significativamente maior em relação ao grupo não-infestado, atingindo um valor de ≈2% no dia 70 p.i. (20 dias após a infestação com *R. microplus*) em comparação com 0,2% no grupo não infestado. A partir do dia 90 p.i. nenhum dos grupos apresentou parasitemia detectável. Apesar de ainda preliminares, estes resultados, sugerem uma possível modulação da infecção por *A. marginale* devido à infestação por *R. microplus*, podendo isto ser resultante de diversos fenômenos, como por exemplo, imunossupressão relacionada a presença de carrapatos. Entretanto, até o momento não é possível identificar os mecanismos responsáveis por estes achados, sendo ainda necessários mais experimentos para explorar esta interação entre carrapato, hospedeiro e microorganismo.

Órgão de financiamento: CNPq, MAPA (edital 64/2008), CAPES, INCT-EM

Anotações _____

AOA 006

INTERFERÊNCIA DO pH DA ÁGUA DA SOLUÇÃO PULVERIZADORA
UTILIZADA NO CONTROLE DO *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Rebeca P. B. Wanderley¹; Antônio Cândido C. L. Ribeiro²; Daniel S. Rodrigues³;
Anderson B. Barros³; Fabiana Ferreira³; Armando C. Carvalho³; Romário
Cerqueira Leite¹

¹DMVP, Escola de Veterinária/UFMG, Belo Horizonte, MG; ²Embrapa Gado de Leite/CEJHB, Coronel Pacheco - MG; ³Fazenda Experimental Santa Rita/EPAMIG; ⁴DZOO, Escola de Veterinária/UFMG.

O controle químico ainda é a principal alternativa para combater os carrapatos dos bovinos, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Mesmo quando empregado de forma correta existem fatores importantes no desempenho do parasiticida. Dentre esses, destacam-se aqueles relacionados à água utilizada para o preparo da calda, como o pH e o grau de dureza da água. Organofosforados e piretróides sintéticos são hoje os parasiticidas mais comercializados no país e fazem parte do grupo dos pesticidas que estão sujeitos a redução do seu desempenho pelo processo de degradação por "hidrólise alcalina" pós-preparo. Em um estudo iniciado em abril/09 no CECP da Embrapa Gado de Leite, que teve como objetivo primário avaliar a eficiência do uso da ureia no controle de *R. (B.) microplus*, foi observado que os animais apresentavam uma persistência de infestação após o tratamento químico, no qual foi utilizado um pesticida de índice prévio de eficácia de 100% obtido nos testes com teleóginas. Utilizou-se 20 vacas mestiças lactantes que foram divididas em dois grupos experimentais, separados em duas áreas; piquetes adubados com ureia (T1) e sem adubação (T0), e mantidas em pastejo rotacionado. A área experimental era composta por 50 piquetes de 400m², cada um pastejado por 24 horas. Os piquetes do grupo tratado (T1), após a saída diária dos animais, recebiam 4,6 kg de ureia. O controle químico foi realizado com carrapaticidas aplicados por aspersão quando constatada a presença de fêmea com ± 3mm. A alta infestação parasitária foi observada mesmo depois dos tratamentos, que mantiveram uma média de 266,3 teleóginas/animal/grupo experimental. Em julho/2009, época de execução do tratamento estratégico, foram realizados três tratamentos em um período de 10 dias; porém a média de infestação dos grupos manteve-se em 111,2 teleóginas/animal/grupo. Em agosto/2009, procedeu-se a redução do pH da água utilizada para fazer a solução de aspersão. O pH inicial variava de 7,2 a 7,8, fez-se então uso do ácido acético PA 50 ml/250L de água e o pH foi reduzido para 3,0. Após o primeiro banho com a acidificação da água, a carga parasitária foi reduzida em ambos os grupos experimentais (T0 = 17,6 teleóginas/animal e T1 = 9,8 teleóginas/animal). Os resultados das contagens foram submetidos ao teste t de Student e obteve-se diferença significativa (p<0,05) entre as contagens de teleóginas antes e depois da acidificação da água. Conclui-se que a redução do pH da água da solução de pulverização preveniu a rápida hidrólise alcalina, melhorando significativamente o desempenho dos tratamentos realizados.

Órgão de financiamento: CNPq; MAPA

Anotações _____

AOA 007

IDENTIFICATION OF NEW METALLOPROTEASE ENCODING GENES IN
Ixodes persulcatus

Abid Ali^{1,2}; Lucas Tirloni^{1,3}; Adriana Seixas^{1,4}; Itabajara Silva Vaz Junior^{1,2}; Carlos Termignoni^{1,3}

¹Centro de Biotecnologia, ²Faculdade de Veterinária, ³Departamento de Bioquímica, UFRGS, ⁴Departamento de Ciências Básicas da Saúde, UFCSA, Porto Alegre, RS, Brazil.

Ticks limit productivity in cattle industry around the world. They alter host defenses inoculating an arsenal of bioactive molecules. Among these molecules, metalloproteases (MPs) have been suggested essential for blood feeding. Studies available about metalloproteases (MPs) show they have a role in extracellular matrix degradation, modulation of host inflammation, blood clotting, nociception and on innate and adaptive immune systems. Taiga tick (*I. persulcatus*) is known for transmission of Lyme disease, human ehrlichiosis, babesiosis, Siberian (TBEV-Sib) and Far Eastern tick-borne encephalitis (TBEV-FE). It is geotropically distributed to China, Eastern Europe, Japan and Asia. *I. scapularis* genome is available and it is useful to search similar genes in other tick species. Here we present the cloning of the coding region of two putative metzincin group MPs from *I. persulcatus*. Primers were designed based on tick MP sequences present in Genbank and PCR was performed with *I. persulcatus* cDNA library. Amplified fragments were cloned into pGEM-T vector and the insertion was confirmed using restriction enzymes, PCR and DNA sequencing. Sequence analyses showed close similarity between these sequences and MPs from other ticks, and indicate they belong to the metzincin group of MPs. Further studies are in progress in order to better characterize these enzymes and understand their role in tick physiology.

Órgão de financiamento: TWAS/CNPq, CAPES, FAPERGS, INCT-EM.

Anotações _____

AOA 008

TICK CYSTATINS: SEQUENCE AND IMMUNOGENICITY ANALYSES

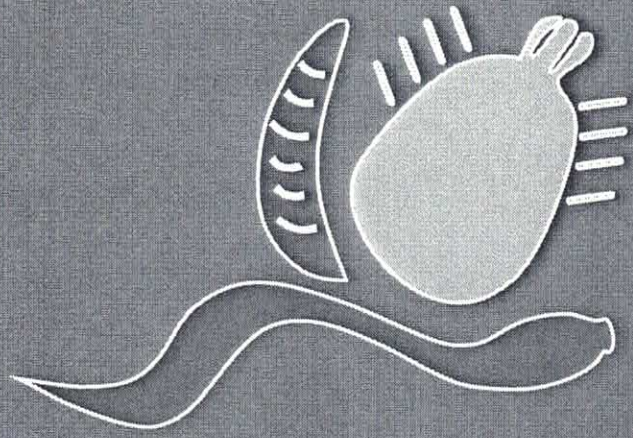
Luís Fernando Parizi¹; Adriana Seixas¹; Naftaly Wang'ombe Githaka²; Carlos Logullo²; Aoi Masuda³; Satoru Konnai³; Kazuhiko Ohashi³; Itabajara da Silva Vaz Jr.¹

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil; ²Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Brazil; ³Graduate School of Veterinary Medicine, Japan. luisparizi@cbiot.ufrgs.br

The cystatin superfamily consists of evolutionary related tight-binding reversible inhibitors of cysteine endopeptidases. Just in recent years, studies have begun to highlight the specificity, function, and vaccine potential of tick cystatins. These works showed the cystatins are important for tick feeding; however, the target enzymes, and the mechanism of action remain unknown. Similarity analysis of tick homolog cystatins and the production of these proteins may represent an opportunity to investigate the use of cystatins in control methods against ticks. The objective of this study was cloning cystatin genes from *Rhipicephalus appendiculatus*, *Ixodes persulcatus*, and *Ixodes ovatus*, as well as the immunogenicity characterization of recombinant cystatins from *Rhipicephalus microplus*. To clone the cystatin genes, primers were designed based on nucleotide database from *Ixodes scapularis* contained DNA sequences with high similarity to cystatins. Five ORFs were amplified by RT-PCR from ovary RNAs of *R. appendiculatus* (1 sequence), *I. persulcatus* (3 sequences), and *I. ovatus* (1 sequence) populations from Kenya and Japan. These ORFs encode proteins ranging from 132 to 140 amino acids, containing signal peptides and 4 cysteine residues in the C-terminus responsible for the formation of two disulfide bonds, characteristic of family 2 cystatins. The deduced amino acid sequences contain differences in highly conserved motifs characteristic of cystatins: QxVxG motif, the glycine in the N-terminal region, and the PW motif in the second hairpin loop in the C-terminal region. The cystatins of Kenya and Japan isolates are between 25% and 99% identical to homolog cystatins from *R. microplus*. For immunogenicity analysis, two recombinant cystatins from *R. microplus* (BRBmcys2b and BRBmcys2c) were expressed, purified and used to immunize mice. Three groups of two animals were used: control group (inoculated with *E. coli* proteins) and groups immunized with BRBmcys2b or BRBmcys2c cystatins. Western blot assays using the mice sera resulted in different pattern of recognition for three recombinant cystatins from *R. microplus*, indicating differences in antigenicity among the cystatins. Hamster vaccination trial using BRBmcys2c cystatin for immunization and *I. persulcatus* for challenge is currently being developed. These results could pave the way for studies on the usefulness of these proteins in the development of a universal vaccine against ticks.

Órgão de financiamento: Brazil: CNPq; CAPES; FAPERGS; FAPERJ; INCT-EM; Japan: MEXT.

Anotações _____

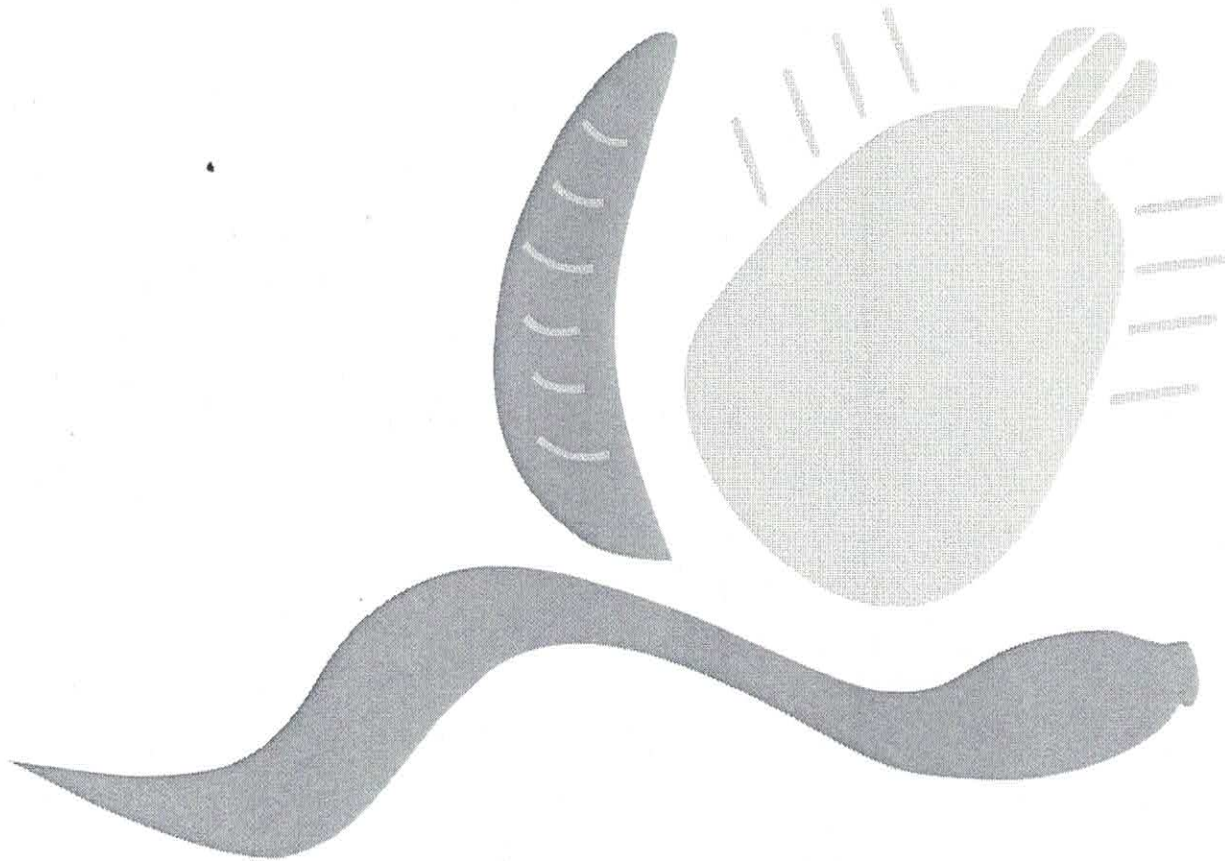


XVII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária

“Parasitologia Veterinária, Bem Estar e Produção Animal.”



03 a 06 de Setembro de 2012 | Rio Poty Hotel - São Luis - MA - Brasil.



CBPV
Colégio Brasileiro de
Parasitologia Veterinária

Anais

