



CULTIVOS PRIMÁRIOS DE CÉLULAS EMBRIONÁRIAS DE *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (ACARI: IXODIDAE), DE ORIGEM TEMPERADA, PARA ESTABELECIMENTO DE LINHAGEM CELULAR

PRIMARY CULTURES OF EMBRYONIC CELLS OF *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE) ACARI: IXODIDAE), OF TEMPERATE ORIGIN, FOR CELL LINE ESTABLISHMENT

L.L. Duarte¹, A. Cirelli-Moraes¹, J. Moraes-Filho², M.B. Labruna² & D.M. Barros-Battesti¹

¹Laboratório Especial de Coleções Zoológicas, Instituto Butantan, São Paulo, ²Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da FMVZ-USP.

A espécie *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) que parasita especialmente cães é amplamente distribuída no mundo. Estudos genéticos com diferentes populações de *R. sanguineus* evidenciaram a existência de duas linhagens divergentes. Esses estudos demonstraram que a linhagem norte representa uma “espécie” diferente de *R. sanguineus* s.s., ao passo que os carrapatos da linhagem sul representam, provavelmente, os verdadeiros *R. sanguineus* s.s. Foi demonstrado que esse carrapato, conforme sua origem, responde diferentemente à transmissão da bactéria *Ehrlichia canis*. O estabelecimento de culturas primárias de *R. sanguineus*, origem tropical, já está em andamento, tendo sido observado que as células podem servir como substrato para cultivo de *E. canis*. O objetivo do presente estudo foi cultivar células embrionárias de *R. sanguineus*, de origem temperada, com a finalidade de preparar cultivos primários para o estabelecimento de linhagem celular, e também, para comparação com as células de *R. sanguineus* de origem tropical. Para tanto, posturas de 14 fêmeas provenientes de Barra do Quaraí, RS, foram preparadas. Os ovos com idade de 13 e de 16 dias foram lavados e quebrados em meio L-15B completo suplementado com 20% de Soro Fetal Bovino. A suspensão celular foi centrifugada a 100 g por 8 minutos, sendo descartado o sobrenadante e o *pellet* ressuspenso em 2 mL do meio L-15B completo com 20% SFB. Antibióticos (penicilina/estreptomicina) e anfotericina B foram adicionados aos cultivos, os quais foram incubados em garrafas de 12 cm² e mantidos em estufa a 30 °C. As células obtidas com ovos das duas idades aderiram ao fundo das garrafas já algumas horas após o preparo. Diariamente as culturas foram acompanhadas e o meio de cultivo foi substituído semanalmente, com adição de antibióticos nas primeiras trocas. O crescimento celular foi lento inicialmente, porém, agora com aproximadamente 2 meses, o desenvolvimento celular está ocorrendo com sucesso. Dessa forma os cultivos primários conseguidos já podem ser expandidos, assim como já podem ser realizados os primeiros testes de criopreservação.

Palavras-chave: cultivos primários, células embrionárias, *Rhipicephalus sanguineus*, origem temperada

Financiamento: FAPESP, CNPq