



REDUÇÃO DO POTENCIAL BIÓTICO E ALTERAÇÕES MORFO-HISTOLÓGICAS NOS OVÁRIOS DE FÊMEAS DE CARRAPATOS *Rhipicephalus sanguineus* ALIMENTADAS EM CÃES IMUNIZADOS COM O PEPTÍDEO RIBOSSOMAL P0

REDUCTION OF BIOTIC POTENTIAL AND MORPHO-HISTOLOGICAL CHANGES IN THE OVARY OF FEMALES OF *Rhipicephalus sanguineus* TICK FED ON DOGS IMMUNIZED WITH P0 RIBOSOMAL PEPTIDE.

G.S. Sanches¹, A. Rodríguez-Mallon², P.M. Évora¹, M.P. Estrada² & G.H. Bechara¹

¹Universidade Estadual Paulista-UNESP, Jaboticabal, SP; ²Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Havana, Cuba.

Recentemente foi demonstrada elevada efetividade de um peptídeo da proteína ribossomal P0 contra o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* em coelhos. Este estudo foi designado para demonstrar se este peptídeo, em diferentes formulações, utilizado para imunizar cães, o hospedeiro natural do *R. sanguineus* afeta o potencial biótico deste ectoparasito. Além disso, foram avaliadas alterações morfológicas-histológicas nos ovócitos destes carrapatos, após alimentação em cães imunizados. Cães da raça Beagle foram distribuídos em três grupos experimentais contendo quatro animais por grupo: G1 - imunizados com 1 mL de 500 µg do peptídeo P0 conjugado com KLH (hemocianina Keyhole limpet) de *Megathura crenulata* mais adjuvante Montanide; G2 - imunizados com 1 mL de 500 µg do peptídeo P0 conjugado com Bm86 mais Montanide e G3 - grupo controle, imunizado com igual volume de PBS mais Montanide. Três imunizações foram realizadas, por via subcutânea, com intervalo de 30 dias entre cada imunização. A infestação desafio de carrapatos foi realizada 15 dias após a última imunização. Para tal, foram utilizadas larvas provenientes de 15 mg de ovos, ninfas provenientes de 150 larvas alimentadas, 30 fêmeas e 20 machos para cada animal, dentro de câmaras de alimentação (uma por instar) fixadas ao dorso depilado dos hospedeiros. Para cada carrapato recolhido foram observados todos os parâmetros biológicos possíveis. Comparações entre os parâmetros biológico obtidos dos grupos G1, G2 e G3 foram estatisticamente analisados pelo teste de ANOVA seguido pelo Bonferroni ($P < 0.05$). O teste ELISA indireto foi utilizado para monitorar os títulos de anticorpos contra os antígenos nos soros dos cães. Duas fêmeas ingurgitadas recolhidas de cada animal foram dissecadas para a remoção dos ovários, que foram fixados em paraformaldeído 4% por 24 horas, desidratados em série etanólica de 70-100%, embebidos em historesina Leica durante 24 horas a 4°C, e então, transferidos para moldes plásticos preenchidos com resina contendo um catalisador. Cortes seriados de 3µm de espessura foram realizados e recolhidos em lâminas de vidro para serem corados com hematoxilina e eosina e observados e fotografados com o auxílio de microscópio de luz. Após a infestação desafio, uma elevada mortalidade em todos os instares foi observada nos grupos vacinados com os conjugados. Os espécimes recolhidos dos grupos vacinados pesaram menos do que os do grupo controle. Os ovócitos das fêmeas pertencentes aos grupos imunizados com os conjugados mostraram grande número de pequenos ovócitos em estágios imaturos, alterações na forma original destes ovócitos, diminuição nos grânulos de vitelo nos ovócitos maduros e vacuolizações citoplasmáticas (indicativo de morte celular). Estes resultados mostram o potencial do peptídeo P0 para o desenvolvimento de vacina anti-*R. sanguineus*.

Palavras-chave: cães, carrapatos, vacina

Financiamento: FAPESP (2013/10394-6)