

## VI9. PRODUÇÃO E AVALIAÇÃO DE UMA PROTEÍNA DE *A. marginale* E *Babesia sp.* PARA USO COMO IMUNÓGENO CONTRA TRISTEZA PARASITÁRIA BOVINA.

Juliana da Silva Gomes<sup>1</sup>; Lenita Ramires dos Santos<sup>2</sup>; Grácia Soares Rosinha<sup>2</sup>; Emanuelle Baldo Gaspar<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Mato Grosso do Sul;

<sup>2</sup> Embrapa Gado de Corte;

<sup>3</sup> Embrapa Pecuária Sul.

**INTRODUÇÃO** Tristeza Parasitária Bovina (TPB) é um complexo de doenças transmitidas pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e que tem como agentes etiológicos os protozoários *Babesia bovis* e *B. bigemina* e a riquetsia *Anaplasma marginale*. Estas doenças causam anualmente perdas consideráveis na pecuária no Brasil, especialmente em áreas de instabilidade enzoótica. Embora exista uma vacina contra TPB sendo comercializada no Brasil, esta é refrigerada e produzida com microrganismos vivos e atenuados, apresentando inúmeras desvantagens, tais como, curta vida de prateleira, risco de reversão de virulência e de transmissão de outros patógenos, por ser produzida em bovinos.

**OBJETIVO** Obter uma proteína recombinante a partir de genes de *A. marginale* e *Babesia sp.* e avaliar a reatividade de soros de animais naturalmente infectados com *Babesia sp.* e/ou *A. marginale* frente a esta proteína, para avaliar seu potencial como candidata a uma nova vacina.

**METODOLOGIA** A proteína recombinante foi obtida a partir de um gene sintético inserido em um vetor de expressão em *E. coli*, contendo porções de dois genes de *A. marginale* e um gene de *Babesia sp.*, sabidamente imunogênicos. As porções de cada proteína que seriam componentes da proteína recombinante foram selecionadas *in silico* a partir da análise das sequências nas ferramentas de bioinformática ProPred® e Protean® (DNASar), que predizem epítomos T. Soros de 25 bovinos naturalmente infectados com *A. marginale* e/ou *Babesia sp.* foram analisados por ELISA indireto para resposta humoral do tipo IgG contra esta proteína.

**RESULTADOS** A proteína recombinante foi produzida com alto grau de pureza, confirmada por avaliação em SDS PAGE e *Western blotting*. Em uma primeira

análise, apenas três dos 25 soros dos animais foram capazes de reconhecer a proteína recombinante. É possível que isso tenha ocorrido porque as porções selecionadas neste estudo foram sintetizadas de modo a conter principalmente epítomos de ligação a MHC classe II, já que estudos sugerem que uma resposta imune capaz de proteger bovinos contra TPB é baseada em uma resposta predominantemente celular. Assim, estudos de avaliação da antigenicidade e imunogenicidade com uma amostragem maior, para bovinos, e análise de resposta imune humoral e celular após imunização de camundongos estão em processamento.

**CONCLUSÃO** O potencial de antigenicidade humoral para esta proteína recombinante foi baixo, reconhecida por apenas 12% dos soros de animais naturalmente infectados. Entretanto, esta proteína não pode ser descartada como potencial imunógeno, pois deve ainda ser melhor categorizada, principalmente com relação à imunidade celular.

**PALAVRAS-CHAVE** vacina, recombinante, tristeza parasitária, bovino.