

# CARACTERIZAÇÃO DE ANTÍGENOS DE *Boophilus microplus* PARA O DESENVOLVIMENTO DE VACINAS\*

Masuda, A y da Silva Vaz\*

O *Boophilus microplus* é causa de grandes prejuízos economicos, pois acarreta queda na produção de leite e carne, com perda média de 0,24 Kg peso vivo/carrapato/ano (Sutherst et al., 1983), causa danos ao couro (Seifert et al., 1968) e é o transmissor dos protozoários *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* e da rickettsia *Anaplasma marginale* Young & Morzaria, 1986).

As propostas para o desenvolvimento de vacinas contra o carrapato têm se baseado em observações com o ectoparasita (Roberts, 1968, Hewetson, 1971, Wagland, 1975, Barriga et al, 1993). Extratos de glândula salivar, o órgão que presumivelmente entra em contato com o sistema imunológico do hospedeiro, foram inoculados em bovinos e conferiram um grau de resistência equivalente ao obtido por seguidas infestações naturais (Broxxard, 1976, Willadsen, 1980).

Antígenos de *B. microplus* derivados do intestino, que presumivelmente não entram em contato com o bovino - «antígenos ocultos» - mas que podem ser atingidos pela resposta imunológica, têm sido o alvo principal dos estudos conduzidos principalmente laboratórios australianos. Animais imunizados com estes antígenos produzem anticorpos contra o ectoparasita (Johnston, et al. 1986, Opdebeek, et al. 1989), sendo verificado que o intestino foi o principal órgão onde ocorreram as lesões nos carrapatos que parasitam os bovinos imunizados, também foi demonstrado que estes antígenos estavam localizados na membrana plasmática das células afetadas (Agbede et al., 1986). Uma proteína originária do epitélio intestinal do carrapato, denominada Bm86, que mostrou certa capacidade imunoprotetora, foi purificada (Willadsen et al., 1988 e 1989), clonada e produzida em sistemas heterólogos recombinantes, em *E. coli* (Rand et al., 1989) em baculovirus (Richardson et al., 1993) e *Pichia pastoris* (Rodrigues et al., 1994). A resposta imune a esta proteína confere certa proteção aos bovinos contra futuras infestações por *B. microplus* (Lee et al. 1991), sem todavia não assegurar ao rebanho o grau de proteção desejado e necessário na produção bovina. Os mesmos pesquisadores que indentificaram a Bm86, recentemente isolaram uma outra proteína, denominada Bm91 que também

possui alguma capacidade imunoprotetora (Riding et al., 1994). Propõe-se atualmente que uma vacina efetiva devará conter mais do que um antígeno protetor (Willadsen et al. 1996).

Nosso grupo tem se envolvido na caracterização de antígenos imunoprotetores para o desenvolvimento de vacinas contra o *B. microplus*.

Uma das estratégias utilizadas tem sido a procura de antígenos comuns a vários instares e tecidos do carrapato, pois a resposta imune produzida pelo bovino imunizado poderia atuar em diversas fases de vida do carrapato. Assim, foi identificada uma proteína de baixo peso molecular, presente em tecidos de embrião, larva, intestino e glândula salivar (Da Silva Vaz et al., 1994) que está em fase de caracterização quanto à sua capacidade imunogênica e protetora. A observação de que imunoglobulinas bovinas presentes na hemolinfa de carrapatos, que são alimentados em bovinos imunizados com uma proteína derivada de ovo do carrapato, permanecem com atividade biológica indica que anticorpos antigem, além do intestino, órgãos internos do carrapato ((Da Silva Vaz et al., 1996). Este fato valida a procura de antígenos que bloqueiam funções importantes no desenvolvimento do carrapato.

Outra estratégia tem sido o desenvolvimento de anticorpos monoclonais (mAb) contra antígenos de *B. microplus* para identificação de antígenos relevantes para comporem uma vacina. Foram produzidos anticorpos monoclonais contra tecidos de embrião e de intestino do carrapato. Verificou-se que o mAb BrBm1 reage com diferentes instares e tecidos de teleóginas, o BrBm2 reconhece somente antígenos presentes no extrato de intestino e os mAbs BrBm3 e BrBm4 reconhecem vitelina. O efeito de inoculação destes mAbs em fêmeas ingurgitadas mostrou que os mAbs BrBm1 e BrBm2 causam diminuição na oviposição de aproximadamente 50% e 70%, respectivamente e os mAbs BrBm3 e BrBm4 não afetam a eficiência reprodutiva. Este ensaio parece ser útil como teste de menor custo para fornecer informações preliminares sobre o possível efeito de anticorpos anti-carrapato em causar danos ao carrapato antes de se realizarem experimentos de vacinação (Toro-Ortiz, et al, in press).

Em resumo, o nosso grupo tem trabalhado no sentido de identificar, através de estudos bioquímicos e imunológicos, proteínas de *B. microplus* com potencial para serem utilizadas como componentes de uma vacina recombinante contra este carrapato. O desenvolvimento de uma vacina contra *B. microplus* é um dos exemplos onde estas modernas tecnologias poderão solucionar problemas sanitários sob o ponto de vista da viabilidade econômica ■

## REFERÊNCIAS

- Agbede, R.I.S. & Kemp, D.H. Int. J. Parasitol. 16(1):35 - 41, 1986.
- Barriga, O.O., Silva, S.S. and Azevedo, J.S.C. J. Parasitol., 79(5):710 - 715, 1993.
- Brossard, M. Acta Tropica, 33:15 - 36, 1976.
- Da Silva Vaz Jr., I., Ozaki, L.S. and Martinez, R.H.M et al. Vet. Parasitol. 62: 155 - 160, 1996.
- Da Silva Vaz Jr., I., Ozaki, L.S. and Masuda, A. Vet. Parasitol. 52: 71 - 78, 1994.
- Hewetson, R.W. Aust. J. Agric. Res. 22:331-342, 1971.
- Johnston, L.A.Y., Kemp, D.H. and Pearson, R.D. Int. J. Parasitol. 16(1): 27 - 34, 1986.
- Lee, R.P., Jackson, L.A. and Opdebeek, J.P. Parasite immunology, 13: 661 - 672, 1991.
- Opdebeek, J.P., Wong, J.Y.M. and Dobson, C. Immunology 67:388-393, 1989.
- Rand, K.N., Moore, T., Srisantha, A. et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 86:9657-9661, 1989.
- Richardson, M.A., Smith, D.R.J., Kemp, D.H. and Tellam, R.T. Insec. Mol. Biology, 1:1-9, 1993.
- Riding, G.A., Jarmey, J. Makenna, R.V. et al. J. Immunology, 153: 5158-5166, 1994.
- Roberts, J.A. J. Parasitol. 54: 657-662, 1968.
- Seifert, G.W., Springell, P.H. and Tatchell, R.J. Parasitology, 58: 415-430, 1968.
- Sutherst, R.W., Maywald, G.F., Kerr, J.D. and Siegeman, D.A. Aust. J. Agric. Res. 34:317-327, 1983.
- Toro-Ortiz, R.D., Da Silva Vaz, J.R., Gonzales, J.C. and Masuda, A. Vet. Parasitol. in press.
- Wagland, B.M. Aust. J. Agric. Res. 26:1073-1080, 1975.
- Willadsen, P. Advances in Parasitology, 18:293-313, 1980.
- Willadsen, P., McKenna, R.V. & Riding, G.A. Int. J. Parasitol. 18:183-189, 1988.
- Willadsen, P., Riding, G.A. & McKenna, R.V. et al. J. Immunology, 143 (4): 1346-1351, 1989.
- Willadsen, P., Cobon, G.S. & McKenna, R.V. Parasite Immunology 18(5): 241-246, 1996.
- Young, A.S. and Morzaria, S.P. Parasitol. Today, 2(8): 211-219, 1986.

\* Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul, UFBGS, C.P. 15005, Porto Alegre, Brasil.

▼ Conferencia, VI Congresso Nacional de Veterinaria.