

RESUMO - ENTOMOLOGIA E ACAROLOGIA

DESENVOLVIMENTO DE VACINA RECOMBINANTE ASSOCIADA A ATIVAÇÃO DE TLR2 CONTRA CARRAPATOS BOVINOS DO BRASIL E DA ÁFRICA

Diuliani Fonseca Morales (diulimoralesfonseca@gmail.com)

Jaqueline De Deos Silveira (jaquedededeos@gmail.com)

Pedro Machado Medeiros De Albuquerque (albuquerque95pedro@gmail.com)

Afonso Silva Pinto Basto (afonsobasto@gmail.com)

Alexandre Leitão (alexandre@fmv.ulisboa.pt)

Rodrigo Casquero Cunha (rodrigocunha_vet@hotmail.com)

A prospecção de uma quimera recombinante com potencial vacinal para o controle de carrapatos bovinos foi conduzida in silico, visando à identificação de epítomos conservados entre espécies de relevância no Brasil e na África. Foram analisadas proteínas de *Rhipicephalus microplus*, *R. decoloratus*, *R. eversi*, *R. appendiculatus* e *R. pulchellus*, obtidas em bancos públicos, como o Genbank. Priorizou-se proteínas previamente descritas como candidatas vacinais ou relacionadas a funções essenciais do carrapato, como glicoproteínas intestinais do tipo Bm86 e seus homólogos, além de inibidores de serina protease do tipo

Kunitz. A predição de epítomos de células B e T foi realizada utilizando ferramentas do IEDB (Immune Epitope Database), considerando afinidade de ligação a MHC classes I e II, conservação entre as diferentes espécies de carrapatos e ausência de homologia com proteínas bovinas para minimizar reações cruzadas. Os epítomos selecionados foram organizados em uma construção quimérica contendo regiões espaçadoras (linkers), otimizando a exposição antigênica. A sequência gênica foi otimizada para expressão heteróloga em *Escherichia coli* BL21 (DE3) e clonada no vetor pET-28a. O produto obtido foi uma proteína recombinante de aproximadamente 35 kDa. O antígeno (Ag) foi expresso e purificado, apresentando o peso molecular esperado, sendo coletado majoritariamente em frações insolúveis. Para recuperação da proteína, foram realizadas etapas de solubilização do pellet com ureia, seguida de diálise. O rendimento médio obtido foi de 1 mg/L de cultivo. Posteriormente, a proteína quimérica foi incorporada a uma formulação vacinal contendo um agonista de TLR2, com objetivo de potencializar a ativação da imunidade inata e favorecer respostas humorais e celulares robustas. Até o momento, foi realizado um ensaio inicial de imunização em 14 camundongos distribuídos em grupos controle não vacinado (4), formulação com Ag + alumínio (5), e formulação com Ag + alumínio + agonista de TLR2 (5). No total, foram duas doses vacinais subcutâneas contendo 25µg do Ag. A partir do isolamento e maceração dos linfonodos inguinais dos animais, análises por citometria de fluxo demonstraram aumento na frequência de células B de centro germinativo (GL7⁺CD95⁺; GC B cells), principalmente no grupo imunizado com a formulação contendo o ligante de TLR2. Como continuidade do estudo, serão realizadas análises de isotipos de IgG e perfil de citocinas, seguidas de ensaios em bovinos com avaliação de PBMCs e testes de desafio por infestação com larvas de carrapatos (inicialmente *R. microplus*)

Palavras-chave: *Rhipicephalus* spp; proteínas quiméricas; imunomodulação; centros germinativos; vacinas veterinárias.