RESUMO - PROTOZOOLOGIA E PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR VETORES

DETECÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE MEROZOÍTOS DE BABESIA BOVIS EM OÓCITOS DE FÊMEAS INGURGITADAS DE RHIPICEPHALUS MICROPLUS

Haile Dean Figueiredo Chagas (haile.dean@discente.ufg.br)

Ana Carolinne Lopes Ascenção (Anaascencao98@gmail.com)

Raphaela Bueno Mendes Bittencourt (rafabmbitt@gmail.com)

Tiago Lemos Do Nascimento (tiago.lemos@discente.ufg.br)

Brendo Augusto Gonçalves Cortes (brendocortes@discente.ufg.br)

Ana Lúcia Coutinho Teixeira (lucya_coutinho@hotmail.com)

Isabela Santos Silva (isabelasantoscbio@gmail.com)

Dr. Pedro Vale De Azevedo Brito (pbrito@ufg.br)

Walquiria Arruda (walquiriaufg@gmail.com)

Felipe Da Silva Krawczak (felipekvet@ufg.br)

Caio Marcio De Oliveira Monteiro (caiosat@gmail.com)

O objetivo desse estudo foi caracterizar merozoítos de Babesia bovis em oócitos de fêmeas ingurgitadas de Rhipicephalus microplus. Esse objetivo surge a partir da detecção de formas intracelulares em oócitos de lâminas histológicas de ovários de fêmeas ingurgitadas de R. microplus, em estudos de análises morfológicas dos ovários de carrapatos tratados com fluralaner. Essas lâminas foram produzidas a partir de fêmeas ingurgitadas de R. microplus, coletadas após desprendimento espontâneo de bovinos, infestados artificialmente. Para avaliação histológica dos ovários, as fêmeas recuperadas foram mantidas em câmara climatizada (UR 80±10% e 27±1 ºC) durante quatro dias. Posteriormente, os carrapatos foram anestesiados por choque térmico, em seguida os ovários foram dissecados e fixados em paraformaldeído 4% por 14 dias, e na sequência, os ovários foram desidratados e emblocados com resina de polimerização (historesina). Os blocos polimerizados foram seccionados em um micrótomo em cortes de 4 µm de espessura e recolhidos em lâminas de vidro para microscopia. As lâminas foram coradas com azul de toluidina 1% para análise em microscopia de luz e com o fluorocromo DAPI para análise em microscópio confocal. Para a caracterização molecular, os blocos de historesina foram trimados para remoção do excesso de resina e transferidos para microtubos de 1,5 mL, aos quais foram adicionados 600 µL de etanol e 20 µL de proteinase K. Os microtubos foram incubados overnight em thermomixer a 56 °C. Em seguida, a extração de DNA foi realizada utilizando o kit comercial DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen), de acordo com as recomendações do fabricante. Para a qPCR, foram utilizados os primers e sondas espécie-específicos BIT (96 pb) e BOT (95 pb), para detecção de B. bigemina e B. bovis, respectivamente. Na microscopia de luz os merozoítos foram observados no interior dos oócitos, estes foram frequentemente observados ao centro dos oócitos imaturos (tipo I, II e III), migrando para a periferia, próximo ao córion, nos oócitos maduros (tipo IV e V). Na microscopia confocal, através do marcador de bases nitrogenadas DAPI, foi possível observar a morfologia desse estágio de desenvolvimento, que mediu entre 2,22 a 2,88 µm. Através da qPCR foi possível confirmar a infecção por B. bovis. Até onde sabemos, estes são os primeiros registros por microscopia de luz e confocal de merozoítos de B. bovis. Além disso, este estudo conta com a descrição inédita de um protocolo de extração de DNA e detecção por qPCR de um material fixado em historesina.

Palavras-chave: carrapato dos bovinos; apicomplexa; patógenos transmitidos por carrapatos.