

CULTIVO DE CÉLULAS EMBRIONÁRIAS DE *Boophilus microplus* COMO SUBSTRATO PARA *Anaplasma marginale*

Camillo, C. S. (1); Kessler, R. H. (2); Soares, C. O. (2). (1) Bolsista de Iniciação Científica do CNPq/Fundect-MS (2) Pesquisador da Embrapa Gado de Corte.

A anaplasmosose é uma doença de bovinos e outros ruminantes, causada pela riquetsia intra-eritrocítica obrigatória *Anaplasma marginale*, que causa grandes prejuízos para a pecuária brasileira. O cultivo *in vitro* dessa riquetsia é uma alternativa econômica, segura e eficaz de produção de antígenos para imunização. Portanto, o objetivo deste trabalho foi cultivar *A. marginale* em cultura de células embrionárias do carrapato *Boophilus microplus*. A cultura de células embrionárias de *B. microplus* foi iniciada utilizando-se ovos de 10-20 teleóginas estéreis. As culturas são mantidas em estufa tipo BOD a 28°C, em frascos para cultivo de tecidos de 25cm² ou 75cm² com 4mL ou 12mL, respectivamente, de meio Leibovitz L-15, pH 6,8, suplementado a cada 15 dias com soro fetal bovino (20%), caldo tryptose-fosfato (10%), albumina bovina (0,1%), l-glutamina (290µg/mL), penicilina (100UI/mL) e estreptomicina (0,1mg/mL). As células são observadas diariamente em microscópio invertido, de contraste de fase. Duas vezes por semana o meio de cultura é substituído. As células crescem aderidas ao frasco e quando uma monocamada é formada procede-se ao subcultivo ou congelamento das mesmas. Dois tipos de congelamento são realizados: congelamento em PBS para posterior caracterização antigênica e congelamento com DMSO (10%), que tem o objetivo de recuperar as culturas. Duas linhagens de células de *B. microplus*, desenvolvidas na Embrapa Gado de Corte, têm sido utilizadas como substratos para o cultivo de *A. marginale*. As infecções com *A. marginale* estão em fase de estabelecimento. Tem sido observado o crescimento lento da riquetsia associada à contaminação com *Mycoplasma* sp. Os experimentos continuam em andamento, com novos métodos de infecção com *A. marginale*, e tratamentos com antibióticos ativos contra *Mycoplasma*, a fim de estabelecer o cultivo em células embrionárias de *B. microplus* desenvolvidas. (Projeto com suporte da Fundect e CNPq).