

6^{as} JORNADAS CIENTÍFICAS do IHMT

Instituto de Higiene e Medicina Tropical
11 dezembro 2015



Título: Análise do sialotranscriptoma da carraça *Rhipicephalus sanguineus* durante a infecção com *Ehrlichia canis*

Autores: J. Ferrolho¹; G. H. Bechara²; J. de la Fuente³; A. Domingos¹

¹Global Health and Tropical Medicine, GHTM, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, IHMT, Universidade Nova de Lisboa, UNL, Lisboa, Portugal; ²Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV,) Universidade Estadual Paulista (UNESP). ³Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC), Universidad Castilla La Mancha (UCLM);

Introdução: *Ehrlichia canis*, responsável pela erliquiose monocítica canina (EMC), é uma bactéria gram-negativa transmitida pela carraça cosmopolita *Rhipicephalus sanguineus*. Atualmente, as infestações e as doenças transmitidas por carraças (DTCs) continuam a ser um problema persistente devido à falta de medidas de profilaxia e controle eficazes, sendo vital investigar e desenvolver novas abordagens para o seu combate. A vacinação tem sido uma das opções utilizadas para reduzir as infestações por carraças, mas uma vacina específica anti-*R. sanguineus* ainda não se encontra disponível. A utilização de ferramentas moleculares como a transcriptómica tem permitido identificar e selecionar genes cujo papel durante o processo de infecção nas glândulas salivares (GS) de carraças tem interesse em ser investigado, contribuindo assim para o desenvolvimento de vacinas anti-carraças.

Objetivos: Este trabalho pretende determinar quais os genes especificamente presentes nas GS de *R. sanguineus* durante a infecção com *E. canis* através de uma caracterização por sequenciação de RNA (RNA-Seq).

Métodos: Dois cães da raça Pastor Alemão foram utilizados neste estudo: um cão foi inoculado por via intravenosa com a estirpe Jaboticabal de *E. canis*, enquanto que o cão controle (não infectado) foi apenas inoculado com PBS. Mil e quinhentas ninfas *R. sanguineus* foram distribuídas por cada animal, em câmaras de alimentação, e deixadas a alimentar até ao abandono do hospedeiro. As ninfas ingurgitadas foram recolhidas e mantidas em condições laboratoriais para efetuarem a muda para o estadio adulto. As GS de

cada fêmea adulta recém-eclodida foram excisadas e o ARN total extraído com TRIReagent. Seguidamente, procedeu-se à construção de quatro bibliotecas de cDNA com o kit TruSeq RNA (Illumina), sendo que duas bibliotecas foram feitas a partir das GS de fêmeas adultas alimentadas cão controlo e duas a partir de fêmeas adultas alimentadas no cão infectado com *E. canis*. Por último, efetuou-se a análise de RNA-Seq.

Resultados: Neste estudo é apresentado o transcriptoma das GS de *R. sanguineus* após a infeção com *E. canis*. A análise do transcriptoma identificou 15521 genes de *de novo assembly*, dos quais 251 genes foram exclusivamente identificados em GS não infectadas e 519 apenas em GS infectadas. Com base na homologia das sequências encontradas com as de outras espécies de carraças foi possível atribuir identificações UniProt e agrupar funcionalmente os transcritos em subcategorias de acordo com as ontologias, tais como o processo biológico, a função molecular e o componente celular usando o UniProtKB.

Conclusões: Embora sejam necessários estudos funcionais detalhados dos genes candidatos para confirmação do papel de cada um deles, esta primeira análise do transcriptoma de *R. sanguineus* fornece muita informação sobre os possíveis mecanismos genéticos envolvidos durante o processo infeção com *E. canis*.