

DESENVOLVIMENTO DE UMA VACINA QUIMÉRICA RECOMBINANTE RMLTI-BMCG-LTB CONTRA O CARRAPATO-DO-BOI *RHIPICEPHALUS MICROPLUS*

PEDRO GABRIEL DE OLIVEIRA¹; PEDRO MACHADO MEDEIROS DE
ALBUQUERQUE²; JAQUELINE DE DEOS SILVEIRA³; DIULIANI FONSECA
MORALES⁴; RODRIGO CASQUERO CUNHA⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – pedrogaoliveira@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – albuquerque95pedro@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – jaquededeos@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – diulimoralesfonseca@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – rodrigo.cunha@ufpel.edu.br

1. DESCRIÇÃO DA INOVAÇÃO

Detalhamento do Produto/Serviço: A proposta inovadora refere-se a uma vacina de natureza quimérica e recombinante, denominada RmLTI-BmCG-LTB, voltada ao combate do carrapato bovino, *Rhipicephalus microplus*. Essa construção molecular agrega dois antígenos provenientes do próprio parasito: o inibidor de tripsina RmLTI (UniPROT: P83606), produzido em estágio larval e originado de uma região conservada da BmTI-6, pertencente à família dos inibidores tipo Kunitz (CSORDAS et al., 2018; CUNHA et al., 2012), e uma variante da proteína Bm86, identificada em Campo Grande (BmCG, GenBank: ACA57829) (CUNHA et al., 2012), além da subunidade B da toxina termolábil de *Escherichia coli* (LTB, GenBank: ACJ23372), que exerce função de adjuvante molecular (CSORDAS et al., 2018). A obtenção da proteína ocorre por expressão recombinante, seguida de purificação e formulação com distintos adjuvantes: Montanide ISA 61 VG, hidróxido de alumínio [Al(OH)₃] e xantana, sendo aplicada por via intramuscular em três doses de 200 µg/2 mL, com espaçamento de 15 dias (NDAWULA, 2021; VARGAS et al., 2010). O acompanhamento da resposta imune humoral é feito por ELISA indireto, enquanto a proteção é mensurada por meio de infestação desafio em *stall test*, avaliando-se número e peso de teleóginas, massa de ovos e taxa de eclodibilidade (MORALES et al., 2024).

Diferenciais: O aspecto que distingue esta inovação é a sua composição multiantigênica, reunindo dois alvos do carrapato e um adjuvante molecular (LTB) em uma única molécula, abordagem que tem se mostrado mais eficaz do que vacinas baseadas em um único antígeno (PARIZI et al., 2012; MARUYAMA et al., 2017; PEREIRA et al., 2022; ABBAS et al., 2023). Nos testes preliminares, a quimera proporcionou redução de 55,6% na infestação de novilhas Angus (CSORDAS et al., 2018). Adicionalmente, o trabalho investiga como diferentes adjuvantes modulam a imunogenicidade da quimera, fator decisivo para otimizar a formulação e melhorar a relação custo-benefício da vacina (BURAKOVA et al., 2018). A relevância dessa escolha é ilustrada pelo caso da vacina TickGARD®, que teve sua eficácia ampliada após a substituição do adjuvante em 1996, sendo então comercializada como TickGARD Plus® (WILLADSEN et al., 1997).

2. ANÁLISE DE MERCADO

Público-alvo: Os principais beneficiários são criadores de gado de corte e de leite, sobretudo os situados em áreas onde o *R. microplus* é endêmico, a exemplo do Brasil, onde os prejuízos anuais ultrapassam US\$ 3 bilhões (GRISI et al., 2014). Em segundo plano, figuram empresas do setor de sanidade animal, cooperativas agropecuárias e órgãos de defesa sanitária. As demandas a serem

atendidas incluem a diminuição do emprego de acaricidas, o combate à resistência parasitária, a promoção do bem-estar animal e o incremento da produtividade dos rebanhos (LEW-TABOR; RODRIGUEZ VALLE, 2016).

Concorrentes: O cenário atual de controle do carrapato é marcado pela hegemonia dos acaricidas químicos, cujo uso prolongado tem selecionado populações resistentes e deixado resíduos em produtos de origem animal (GRISI et al., 2014). A vacina comercial disponível (GAVAC®) apresenta desempenho variável (VARGAS et al., 2010). Diante disso, a inovação aqui apresentada surge como opção biotecnológica mais sustentável e específica, apta a complementar ou, em parte, substituir os métodos químicos (PARIZI et al., 2012).

Potencial de Mercado: Levando em conta o rebanho bovino brasileiro de cerca de 200 milhões de cabeças e as perdas mundiais estimadas entre US\$ 22 e 30 bilhões por ano (LEW-TABOR; RODRIGUEZ VALLE, 2016), o mercado potencial (TAM) mostra-se bastante amplo. O mercado endereçável (SAM) abrange as propriedades situadas em regiões endêmicas, enquanto o mercado obtentível (SOM) começa pelos produtores parceiros no Rio Grande do Sul e no Mato Grosso do Sul, com possibilidade de expansão para outras regiões brasileiras e, no futuro, para outros países latino-americanos (GRISI et al., 2014).

3. ESTRATÉGIA DE DESENVOLVIMENTO E IMPLEMENTAÇÃO

Modelo de Negócios: A receita será obtida pela comercialização de doses da vacina junto a produtores rurais, cooperativas e empresas de sanidade animal. A política de preços considerará os custos de produção e o benefício gerado pela redução das perdas por infestação, levando em conta que adjuvantes de menor custo, como hidróxido de alumínio e goma xantana, podem viabilizar a produção em larga escala (SCHUCH et al., 2017). A distribuição inicial ocorrerá por meio de parcerias com instituições de pesquisa e cooperativas regionais, com posterior ingresso em canais comerciais especializados (NDAWULA, 2021).

Propriedade Intelectual: A inovação está inserida em um projeto de pesquisa que prevê o depósito de patente de, no mínimo, um produto e um processo ligados ao desenvolvimento da vacina, conforme as metas estabelecidas (CUNHA et al., 2024). Embora não haja registro anterior mencionado, a previsão de proteção intelectual está contemplada no escopo do projeto.

Etapas de Desenvolvimento: O percurso do projeto compreende: seleção do gene alvo por bioinformática; síntese da sequência de DNA; inserção em plasmídeo de expressão; transformação em células de expressão; produção da proteína recombinante; formulação da vacina com diferentes adjuvantes; ensaios sorológicos por ELISA indireto; e determinação do percentual de eficácia (MORALES et al., 2024). Os testes de campo e ajustes previstos incluem a imunização de bovinos tick nãive em área naturalmente livre de carrapatos, distribuídos em cinco grupos experimentais (Montanide, Xantana, Al(OH)₃, PBS e GAVAC®), seguida de infestação desafio em *stall test* com 15.000 larvas de *R. microplus* aplicadas no dorso dos animais 21 dias após a última dose (MORALES et al., 2024).

TRL: O projeto situa-se em estágio de pesquisa aplicada, com processos de expressão, purificação e formulação já padronizados (MORALES et al., 2024). Em termos de maturidade tecnológica, a inovação pode ser enquadrada entre TRL 4 e TRL 5, pois já foi validada em laboratório e em condições de campo controladas, mas ainda não em escala real de produção.

Desafios e Riscos: Entre os principais obstáculos estão a variação da resposta imune entre raças e categorias animais, a possibilidade de eficácia

reduzida em condições de campo, a necessidade de ampliar a produção e a obtenção de registro regulatório (BURAKOVA et al., 2018). Estudos indicam que a proteção contra *R. microplus* envolve perfis distintos de IgG1 e IgG2, com níveis séricos que diferem entre genótipos bovinos resistentes e suscetíveis (LEW-TABOR et al., 2017). Como forma de mitigação, prevê-se monitoramento criterioso por ELISA indireto, análise estatística consistente e parcerias com instituições de pesquisa e defesa sanitária (MORALES et al., 2024).

4. RESULTADOS ESPERADOS E IMPACTO

Impacto Social ou Ambiental: A inovação favorece a diminuição do emprego de acaricidas químicos, reduzindo a contaminação ambiental e a presença de resíduos em produtos de origem animal (GRISI et al., 2014). No plano social, contribui para elevar a renda e a qualidade de vida dos produtores rurais, além de promover o bem-estar animal. No aspecto ambiental, atenua a pressão sobre os ecossistemas e a seleção de populações resistentes do parasito (LEW-TABOR; RODRIGUEZ VALLE, 2016).

Projeções Financeiras: A produção inicial de doses será escalonada conforme os resultados de eficácia. A receita tende a ser modesta no começo, mas com possibilidade de crescimento acelerado à medida que a eficácia for confirmada e a produção ampliada. Os custos iniciais envolvem material de consumo e recursos humanos já alocados (CUNHA et al., 2024). A adoção de adjuvantes mais acessíveis, como hidróxido de alumínio e goma xantana, pode viabilizar a produção em larga escala, desde que apresentem eficiência suficiente na redução da infestação (SCHUCH et al., 2017).

Visão de Futuro: A inovação tem potencial para se transformar em uma plataforma de vacinas recombinantes contra outros ectoparasitos, como *Rhipicephalus appendiculatus*, tema de projeto correlato (CUNHA et al., 2024). A expansão inclui produção industrial, registro junto a órgãos reguladores e ingresso em mercados internacionais, consolidando a tecnologia como referência em sanidade animal (PEREIRA et al., 2022).

5. CONCLUSÕES

Síntese: A quimera recombinante RmLTI-BmCG-LTB configura uma inovação biotecnológica capaz de transformar o controle do carrapato bovino, reduzindo a dependência de produtos químicos e favorecendo a sustentabilidade (PARIZI et al., 2012). Os achados evidenciam a relevância de avaliar diferentes adjuvantes no aprimoramento de vacinas contra *R. microplus*. O Montanide proporcionou os maiores níveis de IgG, embora $Al(OH)_3$ e xantana também tenham modulado a resposta humoral, indicando alternativas promissoras que conciliam proteção e custo (MORALES et al., 2024).

Chamada para Ação: Convidamos investidores, agências de fomento e parceiros industriais a participar do desenvolvimento e da validação desta vacina. A próxima etapa consiste em ampliar os testes de campo e escalonar a produção (MORALES et al., 2024). Com esse esforço conjunto, será possível avançar rumo a uma pecuária mais saudável e sustentável.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, M. N. et al. Recent advances in tick antigen discovery and anti-tick vaccine development. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 5, p. 4969, 2023.

BURAKOVA, A. et al. Adjuvants for animal vaccines. **Viral Immunology**, v. 31, n. 1, p. 11-22, 2018.

CSORDAS, B. G. et al. Molecular characterization of the recombinant protein RmLTI-BmCG-LTB: Protective immunity against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **PLoS One**, v. 13, n. 2, p. e0191596, 2018.

CUNHA, R. C. et al. Bovine immunoprotection against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* with recombinant Bm86-Campo Grande antigen. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, p. 254-262, 2012.

CUNHA, R. C. et al. **Desenvolvimento de vacina recombinante contra *Rhipicephalus microplus***. Projeto de pesquisa. Pelotas: UFPEL, 2024.

GRISI, L. et al. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014.

KHORASANI, A. et al. Evaluation of the efficacy of a new oil-based adjuvant ISA 61 VG FMD vaccine as a potential vaccine for cattle. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 17, n. 1, p. 8, 2016.

LEW-TABOR, A. E.; RODRIGUEZ VALLE, M. A review of reverse vaccinology approaches for the development of vaccines against ticks and tick-borne diseases. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, n. 4, p. 573-585, 2016.

LEW-TABOR, A. E. et al. Cattle tick *Rhipicephalus microplus*-host interface: a review of resistant and susceptible host responses. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, p. 506, 2017.

MARUYAMA, S. R. et al. Mining a differential sialotranscriptome of *Rhipicephalus microplus* guides antigen discovery to formulate a vaccine that reduces tick infestations. **Parasites & Vectors**, v. 10, p. 1-16, 2017.

MORALES, D. F. et al. IgG total em bovinos vacinados com quimera recombinante contra o carrapato-do-boi: comparando adjuvantes. In: ENPOS, 2024. **Anais...** Pelotas: UFPel, 2024.

NDAWULA JR, C. From bench to field: a guide to formulating and evaluating anti-tick vaccines delving beyond efficacy to effectiveness. **Vaccines**, v. 9, n. 10, p. 1185, 2021.

PARIZI, L. F. et al. Multi-antigenic vaccine against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: a field evaluation. **Vaccine**, v. 30, n. 48, p. 6912-6917, 2012.

PEREIRA, D. F. S. et al. *Rhipicephalus microplus*: An overview of vaccine antigens against the cattle tick. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 13, n. 1, p. 101828, 2022.

SCHUCH, R. A. et al. The use of xanthan gum as vaccine adjuvant: an evaluation of immunostimulatory potential in BALB/c mice and cytotoxicity in vitro. **BioMed Research International**, v. 2017, n. 1, p. 3925024, 2017.

SILVA, L. A. et al. Comparative study on alginate/chitosan microcapsules and Montanide ISA 61 as vaccine adjuvants in mice. **PLoS One**, v. 19, n. 4, p. e0298117, 2024.

VARGAS, M. et al. Two initial vaccinations with the Bm86-based Gavacplus vaccine against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* induce similar reproductive suppression to three initial vaccinations under production conditions. **BMC Veterinary Research**, v. 6, n. 1, p. 43, 2010.

WILLADSEN, P. Novel vaccines for ectoparasites. **Veterinary Parasitology**, v. 71, n. 2-3, p. 209-222, 1997.