

PADRONIZAÇÃO DE TÉCNICA DE CELL BLOCK PARA CÉLULAS EMBRIONÁRIAS CULTIVADAS DE CARRAPATOS *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*
CELL BLOCK TECHNICAL STANDARDIZATION FOR CULTIVATED EMBRYONIC TICK CELLS OF *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

M.C.Luzzi^{1,2}, W.G. Manrique³, L. Lima-Duarte⁴, T.M.V. Silva², R.Z. Machado², M.R. André², D.M. Barros-Battesti²

¹PPG Medicina Veterinária; ²Depto. de Patologia Veterinária, FCAV-UNESP (Universidade Estadual Paulista), Jaboticabal, SP; ³Universidade Federal de Rondônia;

⁴Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP.

Células embrionárias de carrapatos são cultivadas desde os anos 50 e atualmente estão estabelecidas 40 linhagens. Poucas delas são oriundas de carrapatos neotropicais, como a linhagem IBU-RBM12 da espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. A utilização de técnicas histológicas fornece dados importantes sobre a morfologia destas células e sobre parâmetros para o estabelecimento e crescimento das culturas. A técnica de *Cell Block* é amplamente utilizada como prática de rotina em citologia, e fornece recursos adicionais para caracterizar morfológicamente os processos celulares. O objetivo do presente trabalho foi padronizar uma técnica de *Cell Block* para a linhagem IBU-RBM12. Baseando-se em técnicas de *Cell Block* já estabelecidas para outros tipos celulares, optou-se por realizar dois tipos de fixação: HistoGel[®] (Thermo Scientific) e fixação em formol tamponado à 10%. A padronização foi alcançada da seguinte forma: 4 mL de meio de cultivo contendo células IBU-RBM12 foram alocados em um microtubo e centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e acrescentou-se 1 ml de solução de formol tamponado a 10%. A solução foi agitada por 30 segundos e deixou-se em descanso por 10 minutos. Seguiu-se com centrifugação a 3000 rpm por 10 minutos e em sequência descartou-se o sobrenadante. Após, foi adicionado solução de etanol a 100%, agitando vigorosamente por 30 segundos e descanso por 10 minutos. Foram realizadas duas novas centrifugações a 3000 rpm por 10 minutos, descarte do sobrenadante e 1 hora de banho seco a 60°C em estufa. O precipitado foi retirado do microtubo e fixado em parafina. O sucesso da técnica foi verificado a partir da realização de cortes histológicos em micrótomo, em secções de 3µm, disposição em lâminas de vidro silanizadas e coloração de rotina Hematoxilina e Eosina (HE). Concluiu-se que esta técnica, apesar de sua simplicidade, pode auxiliar significativamente na caracterização de células embrionárias cultivadas de carrapatos, contribuindo para que colorações e marcações celulares específicas possam ser realizadas com sucesso, como análises imunocitoquímicas.

Palavras-chave: cultivo celular, IBU-RBM12, morfologia

Financiamento: FAPESP, CAPES, CNPq.