

### ANÁLISE FUNCIONAL E FENOTÍPICA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS CANINAS GERADAS *IN VITRO* E ATIVADAS POR DIFERENTES ESTÍMULOS BIOLÓGICOS – RESULTADOS PARCIAIS (PROJETO EM ANDAMENTO)

SILVA, M.B.; MASSOCO, C.O.

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Os cães são acometidos por doenças inflamatórias e neoplásicas que apresentam diversas similaridades com quadros registrados em seres humanos e se constituem em um importante modelo animal para a realização de investigações de patologia comparada. As células dendríticas (DCs), na atualidade, consideradas como a população mais potente de células apresentadoras de antígenos são um alvo promissor para a imunoterapia de cães; no entanto o uso terapêutico de DC caninas ainda é limitado, pois as técnicas de isolamento ainda não foram padronizadas e as informações específicas da espécie a esse respeito ainda são insuficientes. O presente projeto foi delineado para avaliar a geração *in vitro* de células dendríticas caninas pulsadas com diferentes doses de lisado tumoral (melanoma canino), bem como, de investigar os seus efeitos sobre a caracterização imunofenotípica e funcional de DCs maduras. Está sendo empregado o buffy coat de bolsas de sangue caninas coletadas pelo Banco de Sangue do HOVET-USP, nas quais por meio de Ficoll 1077g/dL são isolados linfomononucleares que darão origem a DCs após cultivo celular com meio contendo citocinas recombinantes canina (GM-CSF) e interleucina 4 (IL-4). No sétimo dia de cultivo as células do grupo controle e DCs são incubadas com anticorpos MHC de classe II, CD11c, CD86, F4/80 e analisadas em citômetro de fluxo FACScalibur. As células tumorais que dão origem ao extrato tumoral são provenientes de melanomas caninos submetidos à digestão por colagenase e posteriormente congelados à -800 C na presença de soro fetal bovino e DMSO; o lisado tumoral é obtido submetendo-se as células tumorais a ciclos de congelamento com nitrogênio líquido e descongelamento, seguida por sonicação; a quantificação de proteína obtida no extrato é dosada com o método Bradford; no quinto dia de cultivo DCs (DC imaturas) são pulsadas com diferentes quantidades de lisado tumoral; no sexto dia é adicionado LPS para induzir maturação nas DCs e no sétimo dia é avaliada a imunofenotipagem. Até o momento foram obtidos aproximadamente 65% de DCs imaturas e os experimentos de imunofenotipagem após pulsar DCs com lisado tumoral se encontram em andamento.

### DETECÇÃO DE CIRCOVÍRUS E POLIOMAVÍRUS NO ESTADO DE SÃO PAULO

AZEVEDO, N.P.; GUIMARÃES, M.B.; FERREIRA, A.J.P.

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

O impacto de patógenos exóticos nas espécies nativas é um problema reconhecido; dentre as diversas doenças preocupantes em aves de cativeiro, a circovirose e a poliomavirose estão entre as mais importantes. Por serem doenças virais persistentes, com elevada mortalidade e morbidade, são extremamente perigosas tanto para psitacídeos de cativeiro como para os de vida livre. Estudos sobre a ocorrência destes agentes em aves de cativeiro e vida livre foram realizados em várias partes do mundo, entretanto, pouco se sabe sobre estes vírus na América do Sul. O circovírus de psitacídeo é o causador da doença do bico e das penas de psitacídeos (BFV), caracterizado pela distrofia simétrica das penas e pela imunossupressão. O poliomavírus (APV) causa uma doença semelhante à BFD, com alteração em penas, entretanto, outros sinais clínicos como a hemorragia subcutânea são comumente encontrados nesta patologia. Os dois patógenos infectar simultaneamente um mesmo hospedeiro. Apesar de afetarem psitacídeos, poucos estudos sobre estes agentes foram realizados no Brasil. O presente trabalho empregou a técnica de PCR, para detectar circovírus e poliomavírus em amostras biológicas de psitacídeos de cativeiro no Brasil. Foram examinados 120 animais, pertencentes a 23 espécies distintas, com sintomatologia compatível com APV e/ou BFDV. Foram encontradas 57 (47,5%) aves positivas, sendo que em 21 (17,5%) foi detectado o APV e em 41 (34,17%) o BFDV, distribuídos em 18 espécies de psitacídeos. Entre os animais positivos, cinco (8,62%) apresentaram infecção concomitante para os dois vírus. Os sinais clínicos observados nos animais positivos para circovírus foram apteria (n=19), automutilação (n=2), regurgitação (n=1), sinais neurológicos (n=11), apatia/anorexia (n=15) e óbito súbito (n=2). Nas aves positivas para poliomavírus, quatro apresentavam apteria, três automutilação, duas regurgitação, um sinal neurológico, vinte apatia/anorexia e um óbito súbito sem ocorrência de sinais clínicos. Os animais com infecção concomitante por circovírus e poliomavírus apresentavam: automutilação (n=2), apteria (n=3), apatia/anorexia severa (n=2) e sinais neurológicos (n=1). A detecção de APV e BFDV caracteriza o registro da ocorrência de ambos os vírus em psitacídeos de cativeiro no Brasil, tanto em espécies exóticas como em espécies nativas. Os sinais clínicos mais observados nas aves positivas para APV foram anorexia e/ou apatia, demonstrando que as manifestações clínicas da doença são inespecíficas e está é provavelmente a razão deste vírus ainda não ter sido estudado no Brasil. Também deve ser considerada a dificuldade para ser firmado o diagnóstico da doença quando não há outro agente associado. A presença de anemia em uma ave da espécie *Amazona aestiva* é um possível sinal clínico a ser considerado para a infecção por APV.