

Ensayos Biológicos (UCR) e segundo as normas internacionais de bem-estar animal e aprovadas pelas respectivas comissões de ética no uso de animais da FMVZ-USP e CICUA-UCR. Após período de adaptação ao cativeiro, os animais serão infectados experimentalmente e os dados colhidos serão avaliados em função dos achados anátomo-patológicos, clínicos-patológicos e metabólicos.

Resultados esperados: Estabelecimento de padrões normais para as três variáveis nas duas espécies e identificar as diferenças existentes entre as duas espécies: a que sofreu severo declínio (*Lithobates taylori*) e a que parece ter mantido populações estáveis ao longo do tempo (*Lithobates vibicarius*).

Conclusões: Serão avaliados aspectos dos mecanismos de defesa de uma espécie hospedeira frente à infecção por patógeno que é considerado como responsável pelo declínio populacional de anfíbios. **Apoio financeiro:** UCR, CAPES, APANAJUCA-CR. **Palavras-chave:** Anfíbios. Costa Rica. Quitridiomycosis. *Lithobates vibicarius*. *Lithobates taylori*.

FLOW CYTOMETRY ANALYSIS OF PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTE POPULATIONS IN THREE NEOTROPICAL SNAKE SPECIES

CARVALHO, MARCELO PIRES NOGUEIRA¹; QUEIROZ-HAZARBASSANOV, NICOLLE GILDA TEIXEIRA¹; GOMES, CRISTINA DE OLIVEIRA MASSOCO SALLES¹; ROSSI, SILMARA²; SANT'ANNA, SÁVIO STEFANINI³; CATÃO-DIAS, JOSÉ LUIZ¹; GREGO, KATHLEEN FERNANDES³.

1 Department of Pathology, School of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo (USP).

2 Luiz de Queiroz College of Agriculture and Center of Nuclear Energy in Agriculture University of São Paulo (USP).

3 Laboratory of Herpetology, Butantan Institute.

Inflammatory processes are known to protect vertebrates from injuries and infections. However, from an immunological perspective the role of granulocytic and mononuclear leukocytes in snakes' inflammatory process is poorly understood. In this context, leukocyte classification in these animals is not clearly defined, with authors disagreeing on existent cell types and their classification. Published data on reptilian leukocytes classification differentiates them into five cell groups: lymphocytes, azurophils, heterophils, basophils and monocytes. Nonetheless, the presence of eosinophils in the peripheral blood of snakes is occasionally described; their existence has not been proved in many species, except in *Ophiophagus hannah* and *Naja naja*. Azurophils are another leukocyte type in regard to classification. Some authors believe that these cells are merely immature monocytes, while others consider azurophils as cells with unique characteristics and roles, present only in reptiles with lesser numbers in lizards, chelonians and crocodylians, but greater numbers in snakes. Due to the great variation of snakes' leukocytes on cytochemistry, an analysis focused exclusively on optical morphology is insufficient to determine different cell types. Thus, additional studies and methods, as flow cytometry, are important to better understanding the function and origin of each cell type. The objective of this research was to adapt leukocyte density gradients for snake blood samples, and characterize recovered cells based on size, presence of granules and internal complexity by flow cytometry, enabling the qualitative and semi-quantitative assessment of cells constituting the immune system of *Boa constrictor*, *Bothrops jararaca* and *Crotalus durissus*. Blood samples were collected in tubes containing sodium heparin from 30 snakes (10 of each species: five male, five female). Thus, the fresh blood was centrifuged in the presence of either two commercial density gradients: Ficoll-Paque PLUS® and Percoll®. After centrifugation, leukocytes were recovered and analysed according to size and internal complexity by flow cytometry. Comparison between gradient methods for leukocyte isolation did not show any difference

(Kruskal-Wallis-Dunns, $p > 0.05$). Flow cytograms did not evidence differences in the populations distribution between snakes of the same species, especially for mononuclear cells (Skewness and Kurtosis statistical test). When verified by means of flow cytometric cell sorting and confirmed by optical microscopy, populations were mainly composed of small lymphocytes, large lymphocytes, azurophils and heterophils. The investigation identified cell populations and established leukocyte cytograms for these snakes allowing functional and diagnostic assays through flow cytometry. **Keywords:** Cytometry. Neotropical snake. Leukocyte.

LIPOPOLISSACARÍDEO INDUZ COMPORTAMENTO DOENTIO EM RATAS LACTANTES, DIMINUI A VOCALIZAÇÃO ULTRA-SÔNICA E EXACERBA A ATIVIDADE DO SISTEMA IMUNOLÓGICO NOS FILHOTES MACHOS

NASCIMENTO, AMANDA¹; ALVES, GLAUCIE¹; MASSOCO, CRISTINA¹; TEODOROV, ELIZABETH³; FELÍCIO, LUCIANO¹; BERNARDI, MARIA MARTHA².

1. Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo

2. Programa de Pós-Graduação de Meio Ambiente e Patologia Experimental e Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista, UNIP, São Paulo

3. Centro de Matemática, Computação e Cognição da Universidade Federal do ABC, Santo André, Brasil

Objetivo: Foram analisados os efeitos do lipopolissacarídeo (LPS) sobre o comportamento materno durante a lactação e as suas possíveis correlações com alterações no emocional e na resposta imunológica na prole de ratas.

Métodos: Ratas lactantes receberam 100 ug / kg de LPS i.p. ou solução salina no terceiro dia de lactação (LD3). A atividade geral e o comportamento materno foram registrados no LD5, dia em que houve o pico de febre. Nos filhotes machos, os parâmetros hematológicos e as vocalizações ultra-sônicas (USVs) foram avaliados no LD5. No desmame, foi administrada uma dose adicional de LPS (50 ug /ug, ip) em filhotes machos nos quais foi efetuada a avaliação do comportamento em campo aberto e o burst e a fagocitose de leucócitos. **Resultados:** Foi observada a redução no tempo para recuperação do primeiro filhote contudo não houve qualquer efeito sobre comportamento agressivo e materno. No LD5, foi constatada a redução na frequência de USVs, mas não foram encontrados sinais de inflamação. Ao desmame, foi observado aumento na atividade do sistema imunológico porém sem a ocorrência de diferenças em campo aberto. **Conclusão:** Os resultados obtidos indicaram que a inflamação em mães lactantes pode alterar a interação mãe/filhote e pode ter produzido, a curto e longo prazo, efeitos sobre o comportamento dos filhotes, bem como nas vias biológicas que modulam as suas respostas inflamatórias quando desafiados com endotoxina bacteriana.

Apoio financeiro: CAPES. **Palavras-chave:** Lipopolissacarídeo. Comportamento animal. Ratos, fêmeas. Sistema imunológico.