

do DNA e pelas modificações das histonas no processo de diferenciação trofoblástica. Os experimentos propõem viabilizar o entendimento da regulação epigenética no desenvolvimento placentário de bovinos, bem como a influência das biotecnologias reprodutivas em tais processos.

033

**Circovírus suíno tipo 2 (PCV-2):
patogenia comparada dos subtipos A e B
e efeitos sobre o desempenho zootécnico
de suínos experimentalmente infectados
com amostras brasileiras**

Alessandra Marnie Martins Gomes de Castro
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2007/57115-3
Vigência: 1/7/2009 a 30/6/2013

Circovírus suíno tipo 2 (PCV-2) é responsável pela circovirose suína, que engloba várias condições clínicas, quais sejam: síndrome multissistêmica catequizante pós desmame (PMWS), síndrome dermatite-nefrite suína (PDNS), distúrbios da reprodução, complexo respiratório suíno (PRDC), tremor congênito e enterite granulomatosa, já descritas em vários países. No Brasil, a ocorrência de PCV-2 é conhecida desde 2001 e, em 2005, verificou-se a presença dos dois subtipos de PCV-2, o PCV-2A e PCV-2B. A complexa patogenia, os múltiplos fatores de risco e as interações microecológicas do PCV-2 em suínos fazem com que o conhecimento atual permita compreender apenas em parte o verdadeiro impacto das circovirose em suínos. Diante do exposto, o presente trabalho estudará o impacto dos subtipos A e B no desempenho zootécnico dos animais e irá comparar a patogenia de ambos os subtipos. Para isso, serão realizados três experimentos (duração de 42 dias cada), em que os animais serão inoculados com subtipo A, subtipo B e ambos, respectivamente. Durante o projeto serão coletados dados referentes a desempenho produtivo e patogenicidade do vírus. O desempenho será analisado por meio da coleta de dados referentes ao ganho de peso e conversão alimentar. A patogenicidade será avaliada por meio da descrição das manifestações clínicas, alterações anatômicas e histológicas, detecção de DNA viral em tecido, secreções e excreções e detecção de anticorpo anti-PCV-2 no soro. As técnicas utilizadas serão coloração de tecido pela hematoxilina-eosina (HE), reação em cadeia pela polimerase em tempo real (Real Time PCR), imunohistoquímica (IHQ), ensaio imunossorvente ligado a enzima (Elisa) e sequenciamento.

034

**Alterações celulares e moleculares
induzidas pelo estresse térmico em oócitos
Bos indicus e *Bos taurus***

Fabiola Freitas de Paula Lopes
Instituto de Zootecnia
Secretaria de Agricultura e Abastecimento
Processo 2007/53323-0
Vigência: 1/12/2007 a 30/11/2011

As alterações no microambiente do trato reprodutivo podem comprometer o crescimento e a maturação do oócito, bem como o desenvolvimento embrionário pré-implantacional. A exposição de oócitos bovinos às condições adversas de temperatura, como o estresse térmico, reduz de maneira dramática o desenvolvimento embrionário e os índices de gestação. Entre as alterações celulares induzidas pela temperatura elevada destacam-se os danos no citoesqueleto e a morte celular por apoptose. No entanto, existem evidências de que embriões bovinos das raças *Bos indicus* são mais resistentes à temperatura elevada do que os de *Bos taurus*. Com base nessas evidências, esta proposta de trabalho objetiva: 1) determinar o efeito das raças e do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) na competência de oócitos bovinos colhidos de vacas *B. indicus* (nelore) e *B. taurus* (holandesa) submetidas ao estresse térmico em câmara climática; 2) determinar pela técnica de *microarray* genômico as diferenças de expressão gênica em oócitos e células do cumulus (CC) colhidos de vacas *B. indicus* (nelore) e *B. taurus* (holandesa) submetidas ao estresse térmico em câmara climática; e 3) caracterizar as alterações celulares induzidas pelo estresse térmico *in vitro* e o papel protetor do IGF-I em oócitos no estágio de vesícula germinativa (VG).

035

**Detecção de *Chlamydophila psittaci*
e do vírus da doença de Newcastle
em aves aquáticas das ordens
Charadriiformes e Pelecaniformes**

Tânia de Freitas Raso
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2007/53173-9
Vigência: 1/11/2007 a 31/10/2010

Aves silvestres, especialmente as aquáticas e migratórias, são consideradas portadoras ou reservatórios em potencial de diversos patógenos e podem ter um importante papel na cadeia epidemiológica de enfermidades com potencial zoonótico ou de impacto econômico para a indústria avícola. Cerca de 300 espécies de aves marinhas estão catalogadas em todo o mundo, com aproximadamente 140 já registradas no Brasil, sendo algumas residentes e outras visitantes. Destas, várias espécies pertencentes às ordens Charadriiformes e Pelecaniformes agrupam-se em colônias, algumas vezes mistas, nidificando em locais com altas densidades populacionais, o que favorece a disseminação intra e interespecíes de agentes

patogênicos. Entre eles destacam-se a *Chlamydophila psittaci*, considerada uma das principais zoonoses transmitidas por aves, e a doença de Newcastle, uma das mais importantes enfermidades da avicultura comercial, inserida no Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) do Ministério da Agricultura. Apesar do elevado nível de desenvolvimento da avicultura brasileira, raros estudos têm sido realizados envolvendo a participação de aves silvestres na cadeia epidemiológica dessas enfermidades. Em vista da carência de informações sobre o *status* sanitário de algumas espécies de aves aquáticas que ocorrem na costa brasileira, o presente trabalho objetiva pesquisar a ocorrência de *Chlamydophila psittaci* e do vírus da doença de Newcastle em espécies das ordens Charadriiformes e Pelecaniformes em diversos locais do país. Para tanto, será realizada a pesquisa direta dos agentes pela reação em cadeia pela polimerase (PCR e RT-PCR) com posterior sequenciamento e caracterização das amostras positivas (sorovar e estirpe). Ademais, será avaliado o perfil sorológico das aves frente a esses patógenos por meio das técnicas de fixação do complemento e inibição da hemaglutinação. Espera-se que as informações obtidas em relação à epidemiologia dessas enfermidades possam contribuir com os programas de conservação das espécies silvestres e com os programas de vigilância e controle desses agentes na avicultura comercial.

036 Interação de terapia celular e gênica para a correção da distrofia muscular de Duchenne utilizando endonucleases quiméricas

Carlos Eduardo Ambrósio
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Processo 2007/51222-2
Vigência: 1/11/2007 a 31/10/2011

Este projeto visa à correção do gene causador da distrofia muscular por meio de modificações genéticas específicas permanentes. Uma alternativa para a minimização da integração incontrolada do DNA no genoma é por meio da integração sítio-alvo por recombinação homóloga ou gene *targeting*. O desenvolvimento de novas classes de terapêuticos que podem desencadear rearranjos no DNA genômico de maneira específica representa uma nova promessa para um aumento significativo de eficiência dessa técnica. Recentemente, desenvolveu-se uma tecnologia para a criação de proteínas que se ligam ao DNA de uma maneira específica e induzem quebra na molécula do DNA dupla fita dos genes-alvo, formados por *zinc finger* nucleases (ZFNs). Estas oferecem grandes vantagens à terapia gênica em relação a outras estratégias que envolvem regulação gênica devido ao fato de essas

modificações serem de natureza permanente e transmitida para a progene celular. O potencial terapêutico das ZFNs em corrigir a mutação causadora da distrofia muscular em cães vai ser avaliado em linhagens de células-tronco recentemente isoladas, oriundas de populações mononucleares de sangue de cordão umbilical de animais distróficos, da sua medula óssea, e de linhagens celular progenitoras de membranas fetais. Esta proposta também objetiva estabelecer um grupo de referência em terapia gênica aplicada à medicina veterinária envolvendo modelos animais.

037 Caracterização molecular e antigênica de isolados de *Ehrlichia canis* procedentes de diferentes regiões do Brasil

Daniel Moura de Aguiar
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (Apta)
Secretaria de Agricultura e Abastecimento
Processo 2006/55491-5
Vigência: 1/1/2007 a 7/17/2008

Ehrlichia canis, agente causador da erliquiose monocítica canina, é uma doença endêmica no Brasil, onde é transmitida aos cães pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. Inicialmente, o presente projeto objetiva isolar, em cultura de células, *E. canis* de cães sintomáticos de diferentes regiões do Brasil. Os isolados obtidos serão caracterizados molecularmente, determinando-se as sequências de nucleotídeos de fragmentos dos genes *dsb*, *p30* e *16S rRNA* para serem comparados filogeneticamente entre si e com sequências correspondentes a outros isolados de *E. canis* de outros países. Nos isolados, será realizada a caracterização antigênica por *Western blotting* com soros provenientes dos cães artificialmente infectados que serão comparados entre si para avaliar a existência de possíveis diferenças antigênicas. Os resultados obtidos fornecerão subsídios para futuros e atuais estudos que buscam uma vacina anti-*E. canis* para ser utilizada em nível nacional ou mundial.

038 Epidemiologia das infecções por torovírus em bovinos no Estado de São Paulo: do diagnóstico molecular por RT-PCR ao desenvolvimento e aplicação de ensaios imunoenzimáticos (DAS-Elisa e I-Elisa)

Ricardo Luiz Moro de Sousa
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Processo 2006/52060-3
Vigência: 1/3/2007 a 28/2/2011

As doenças entéricas associadas com diarreia, desidratação e perda de peso constituem um dos principais