

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

problemas da bovinocultura mundial, contribuindo para expressivos índices de morbidade e mortalidade, preponderantemente entre neonatos. Nesse contexto, exigências para uma melhor compreensão da epidemiologia, bem como do diagnóstico laboratorial e prevenção das doenças entéricas de natureza infecto-contagiosa, tomaram-se constantes, no âmbito da medicina veterinária preventiva, em face das perdas econômicas decorrentes de mortes e retardamento no crescimento. Entre os principais enteropatógenos virais, de distribuição mundial e história recente, destaca-se o torovírus bovino, sobre o qual, no Brasil, até o presente momento, não existe dado algum disponível na literatura pertinente a respeito do diagnóstico laboratorial ou da epidemiologia dessa virose. Portanto, investigações envolvendo a detecção e caracterização de torovírus bovinos circulantes no Estado de São Paulo, preferencialmente na região do nordeste paulista, em associação com estudos soroepizootiológicos, tornam-se imprescindíveis, não apenas em relação à melhor compreensão das características filogenéticas e distribuição desses vírus, mas também, e principalmente, em relação à epidemiologia e diagnóstico laboratorial dessa virose, contribuindo para determinar a possível importância do torovírus bovino na etiologia da diarreia em bezerros no Brasil. Nesse sentido, o presente projeto tem por objetivos: a expressão, em sistema procarioto, da nucleoproteína recombinante do genótipo de torovírus circulante no estado; o desenvolvimento e a aplicação dos ensaios DAS-Elisa e I-Elisa, comparativamente ao teste de HI, para a detecção de vírus e de corpos específicos, a partir da nucleoproteína recombinante e de imunorreagentes especificamente produzidos; a detecção e a caracterização genômica de torovírus, por técnicas de RT-PCR e sequenciamento genômico, a partir de amostras de fezes, procurando-se estabelecer relações filogenéticas com outros torovírus já descritos.

039

Fatores de virulência, epidemiologia molecular e reflexos em saúde pública de linhagens de *Rhodococcus equi* isoladas de animais, do homem e do ambiente

Marcio Garcia Ribeiro

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu
Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Processo 2006/50406-0

Vigência: 1/10/2006 a 30/9/2009

A rodococose é considerada uma das principais causas de morbi-mortalidade em potros e de linfadenite em suínos. Recentemente é reconhecida em todo o mundo como doença emergente no homem, notadamente em pacientes imunossuprimidos, em especial, acometido pela Aids. São incipientes os estudos no Brasil conduzidos na investigação dos fatores de virulência de *Rhodococcus equi* isolados do homem, de animais e/ou do ambiente. O pre-

sente estudo pretende investigar os principais fatores de virulência em estirpes de *R. equi* isoladas de potros e de seu ambiente de criação, de linfadenite em suínos e javalis, e de casos de rodococose humana, em pacientes acometidos ou não pelo vírus da Aids. Pretende-se realizar o estudo da epidemiologia molecular da enfermidade, com base na determinação dos plasmídios e antígenos ligados à virulência das estirpes e sua classificação em virulentos (VapA), de virulência intermediária (VapB) e avirulentos. Pretende-se também determinar outros mecanismos ligados à patogenicidade do agente, incluindo o perfil de sensibilidade microbiana, a ocorrência de linhagens multirresistentes aos antimicrobianos, a multiplicação em meio com restrição de ferro, a presença de “apêndices” bacterianos, capacidade de manutenção intracelular – mediante a microscopia eletrônica –, presença de citotoxinas (fator *equi*), ação de permeantes de membrana bacteriana, assim como a prevalência de isolamento de *R. equi* no ambiente de criações, das fezes e do intestino de equinos e de linfonodos de suínos, com vista a contribuir no esclarecimento do impacto da presença dos principais fatores de virulência na patogenicidade das estirpes e na relação homem-animal e ambiente nas infecções por *R. equi* no país.

040

Quimerismo embrionário nas espécies murina e bovina: interação da massa celular interna de embriões produzidos *in vivo* com embriões receptores produzidos *in vitro*

Marcelo Fábio Gouveia Nogueira

Faculdade de Ciências e Letras de Assis
Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Processo 2006/06491-2

Vigência: 1/2/2008 a 31/1/2012

Células-tronco embrionárias (ESC) têm sido utilizadas nas tentativas de obtenção de tecidos específicos ou mesmo de indivíduos. Devido à plasticidade dessas células – por possuírem uma pluripotência na geração de tipos celulares provenientes das três camadas germinativas (ectoderme, mesoderme e endoderme) –, uma das possibilidades poderia ser o estabelecimento de linhagens permanentes de ESC, oriundas de embriões, com um histórico reprodutivo superior (isto é, provenientes de doadoras com médias de produção de embriões e/ou taxas de gestação aliadas à superioridade fenotípica de sua progênie). Essas linhagens poderiam ser utilizadas na geração de animais quiméricos e/ou de animais clonados por transferência de núcleo (NT). Assim, a obtenção, a caracterização da pluripotência e a perpetuação de tais linhagens poderiam abrir interessantes perspectivas quanto à biotecnologia da reprodução assistida em bovinos. Na produção de embriões quiméricos, uma possibilidade seria a manipulação da relação entre as populações de ESC e da massa celular interna (ICM) do embrião receptor, com o