

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 soropizootiológicos, 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 bezerras 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

intuito de aumentar – ou mesmo substituir integralmente – a participação das ESC na formação das gônadas do indivíduo. Com esse intuito, serão utilizados embriões murinos e bovinos (produzidos *in vivo* e *in vitro*, respectivamente) como receptores da ICM, oriunda de embriões obtidos *in vivo* ou de partenogenotos, na indução do quimerismo das gônadas. Os embriões doadores das ICM serão obtidos de camundongos transgênicos GFP ou de vacas da raça nelore. Será testada a metodologia de redução – e mesmo de exclusão – da ICM do embrião receptor, como favorecimento à incorporação e povoamento da ICM oriunda dos embriões doadores (no caso extremo, o embrião receptor contribuiria somente com o trofocotoderma, sendo toda a ICM oriunda do embrião doador). Será utilizada a transfecção da ICM, com EGFP, para a determinação *in vitro* da eficácia do quimerismo embrionário na espécie bovina. Um dos objetivos deste projeto é adquirir conhecimento básico no estabelecimento de linhagens autorrenováveis de células-tronco embrionárias, oriundas de embriões bovinos (produzidos *in vivo* e mediante partenogênese) a partir de fêmeas selecionadas com base no seu histórico reprodutivo e/ou produtivo. Além disso, será investigada a eficácia na obtenção de fêmeas bovinas quiméricas e sua caracterização quanto ao grau de quimerismo presente nos ovários. Embora este projeto possua um fundamento na pesquisa básica, em sua estrutura conceitual existe uma profunda ênfase nas aplicações, práticas e comerciais, decorrentes do domínio das técnicas propostas no presente projeto. Algumas dessas aplicações poderiam ser a manipulação gênica de tais linhagens de ESC – relacionadas às características de produção, reprodução e resistência – ou na incorporação de transgenes nessas linhagens. Tais modificações no genótipo das ESC, associado à clonagem por NT, poderiam resultar em fontes inesgotáveis de matéria-prima na construção de biorreatores bovinos. Finalmente, a implementação de um polo de biotecnologia animal na Unesp, no *campus* de Assis, será uma forte base de sustentação e nucleação científica para o recém-criado curso de graduação em biotecnologia.

041

Modelo de risco para circulação do vírus da raiva em populações de herbívoros no Estado de São Paulo

Ricardo Augusto Dias

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2006/04250-8

Vigência: 1/12/2006 a 31/5/2008

O presente trabalho apresenta uma metodologia qualitativa de avaliação do risco de circulação do vírus da raiva (variante 3) em populações de herbívoros domésticos do Vale do Rio Paraíba do Sul, Estado de São Paulo. Serão construídas árvores de cenário que levarão

em conta a exposição e difusão da raiva, a fim de se estimar a probabilidade de ocorrência da raiva nos herbívoros. Essa probabilidade será associada à localização geográfica das propriedades rurais, e as áreas de maior risco serão priorizadas, quando da implantação das medidas de controle preconizadas pelo Programa Nacional de Controle da Raiva de Herbívoros, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Para a realização do presente projeto, foi estabelecida uma parceria entre o Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde de Animal da FMVZ-USP, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e a Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo.

042

Patologia molecular: avaliação de alterações genômicas, proteômicas e glicobiológicas em tecidos pela técnica do *tissue array*

Paulo César Maiorka

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2005/60606-3

Vigência: 1/6/2006 a 31/5/2010

A biologia molecular é uma ferramenta importante que vem sendo aplicada ao estudo e compreensão de fenômenos biológicos. O conhecimento da estrutura e função dos genes, bem como suas alterações, é hoje amplamente explorado no campo da medicina molecular. A estrutura e funções, assim como as alterações das proteínas, também são amplamente investigadas na gênese de processos patológicos. Estes estudos vêm revolucionando os conceitos da patologia e dando início ao que se chama “a era da patologia molecular”. Dessa forma, as alterações nesses componentes celulares vêm contribuindo muito ao conhecimento da etiopatogenia de diversas doenças. Também recentemente estudos sobre os açúcares, componentes estruturais das células e dos tecidos, vêm sendo envolvidos na gênese de processos patológicos. Essas substâncias, encontradas normalmente na constituição morfológico-estrutural das células, desempenham inúmeras funções. Diversos distúrbios morfofuncionais, que caracterizam o processo de doença, são provocados por alteração quali e quantitativas desses componentes. Este ramo, a glicobiologia (glicopatologia), evidenciou a diversidade e a importância de tais componentes na estrutura e na função de células e tecidos e sua importância na manutenção da homeostasia. Dessa forma, pode-se dizer que o estudo da biologia das doenças, nos dias de hoje, caracteriza-se pela investigação das alterações genômicas, proteômicas e glicobiológicas das células e tecidos dos animais. Sendo, então, o estudo dos genes, das proteínas e dos açúcares considerado o tripé da patologia molecular. O estudo das alterações teciduais, determinadas pelas doenças, é o carro-chefe das atividades do patologista. O