

## Imunofenotipagem de células CD4+ em amostras de sangue de bezerros da raça Canchim

Maria Fernanda Tonelli<sup>1</sup>; Cíntia Hiromi Okino<sup>2</sup>; Hayala Caroline Silva Ferreira Gomes<sup>3</sup>; César Cristiano Bassetto ; Paulo Vitor Marques Simas ; Yngrid Karina Veltroni ; Pamella Cristini Silva ; Marília Dal Ri Martins ; Henrique Nunes de Oliveira ; Márcia Cristina de Sena Oliveira .

<sup>1</sup>Aluna de graduação em Medicina Veterinária, Universidade Central Paulista, São Carlos, SP. Bolsista PIBIC/CNPq, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP; mariafervet2017@gmail.com.

<sup>2</sup>Analista do Laboratório de Sanidade Animal da Embrapa Pecuária Sudeste São Carlos, SP.

<sup>3</sup>Aluna de mestrado, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

<sup>4</sup>Aluno de pós-doutorado, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP. Bolsista CNPq.

<sup>5</sup>Aluno de pós-doutorado, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP. Bolsista Fapesp.

<sup>6</sup>Aluna de pós-graduação, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

<sup>7</sup>Aluna de graduação em Medicina Veterinária, Universidade Central Paulista, São Carlos, SP. Bolsista PIBITI/CNPq, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

<sup>8</sup>Aluna de graduação em Medicina Veterinária, Universidade Central Paulista, São Carlos, SP. Bolsista PIBIC/CNPq, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

<sup>9</sup>Professor Titular do Departamento de Zootecnia Unesp, Jaboticabal, SP.

<sup>10</sup>Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

No Brasil, as babesioses bovinas ocorrem de forma endêmica e sua ocorrência segue a dispersão do carrapato *Rhipicephalus microplus*, dificultando o controle da doença. Sendo assim, a seleção de bovinos mais resistentes tem grande importância na melhoria da qualidade e produtividade do rebanho. Os linfócitos CD4 têm papel central na imunidade a estes hemoparasitas. Como têm sido descritas diferentes formas alélicas de CD4 em bovinos, nesse experimento o objetivo foi padronizar um protocolo que permitisse a marcação destas células em amostras de sangue bovino. Para esse fim foram usadas amostras de sangue recém colhidas de bezerros da raça Canchim naturalmente infectados com *Babesia bovis* e *B. bigemina*. Para a marcação das células CD4 foi usado o anticorpo anti CD4 (AlexaFluor 647 Cat. MCA1653A647). Resumidamente, 25 microlitros de células de sangue total foram colocados em tubos de poliestireno com 50  $\mu\text{L}$  de IgG de camundongo purificado (1,25  $\mu\text{g}$ ) e incubados a 4 ° C por 15 min. Foram adicionados 2  $\mu\text{L}$  dos anticorpos diluídos, os eritrócitos foram lisados e as amostras foram incubadas por 15 min em temperatura ambiente. As amostras foram centrifugadas, lavadas e as células coradas foram suspensas em 100  $\mu\text{L}$  de tampão de coloração e uma gota do marcador de viabilidade celular 7AAD (Cat. 1351102, Bio-rad). Todas as amostras foram analisadas no citômetro de fluxo (Accuri C6 Plus, BD) no mesmo dia e analisados no software Flowjo versão 10.5.3. Foram verificados diferentes padrões de coloração e as amostras foram fenotipadas como CD4- (ausência de coloração anti-CD4), CD4 + (coloração intermediária) e CD4 ++ (coloração alta). Contudo, o protocolo padronizado mostrou-se adequado para as análises, e posteriormente os dados serão correlacionados com os diferentes níveis de infecção por babesias detectados nesses animais.

Apoio financeiro: Fapesp Projeto 2016/07216-7; Embrapa 12.1700.005.00.00; Fapesp (Processo nº 2019/06593-0).

Área: Ciências Biológicas

Palavras-chave: babesioses, imunidade, fenotipagem.

Número Cadastro SisGen: AD22351