

## PH 111 EXPRESSÃO GÊNICA DE CONGLUTININA NO ABOMASO DE OVINOS NATURALMENTE INFECTADOS COM NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS

Cristiane Carina Yuki<sup>1</sup>; Sandra Mayumi Nishi<sup>1</sup>; Sabrina Mota Lambert<sup>1</sup>; Bárbara Maria Paraná da Silva Souza<sup>1</sup>; Stenio Perdigão Fragozo<sup>2</sup>; Alessandra Estrela<sup>1</sup>; Karine Araújo Damasceno<sup>1</sup>; Maria Angela Ornelas de Almeida<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, <sup>2</sup>Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Carlos Chagas, Paraná. yuki\_mev@yahoo.com.br.

No semiárido brasileiro, as nematodoses gastrintestinais, principalmente a hemonose, são frequentes em ovinos e o *Haemonchus contortus* se destaca como o nematóide mais patogênico para estes animais. Para controlar a infecção, os ovinos desenvolvem diferentes perfis imunes de rejeição ao parasito, nos quais participam vários componentes celulares e humorais. Neste contexto, conhecer as moléculas que são expressas por células epiteliais gastrintestinais e secretadas no muco, após a infecção, pode ter papel relevante na resistência do hospedeiro. As lectinas se caracterizam por reconhecer glicoproteínas da superfície de patógenos e foi demonstrada sua participação na resposta imune inata contra parasitos, entretanto pouco se sabe sobre a relação da expressão das lectinas no trato gastrintestinal e a resistência às parasitoses em ovinos. Assim sendo, o presente estudo avaliou a expressão do gene de conglutina, por meio de RT-qPCR, no abomaso de ovinos, de diferentes faixas etárias e naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais. Foram analisados dois grupos de seis ovinos mestiços de Santa Inês: grupo 1 – cordeiros, até dois meses e grupo 2 – borregos com idade aproximada de seis meses. *Haemonchus contortus* foi a única espécie identificada no abomaso, sendo a média do número de espécimes nos cordeiros de 173±356,2 (20 - 900) e nos borregos de 1307±1565,3 (10 - 4.380). A expressão do gene da conglutina foi detectada no abomaso de todos os ovinos, com variação da expressão entre os grupos e os indivíduos do mesmo grupo. As médias dos valores de expressão do gene da conglutina para os grupos 1 e 2 foram, respectivamente, 3,1±2,1 (1,6 a 7,1) e 14,9±3,7 (7,9 a 18,4), sendo encontrada diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ). A avaliação macroscópica do abomaso revelou a presença, em áreas focais na mucosa, de hemorragia puntiforme em dois animais do grupo 1, enquanto que no grupo 2, a maioria dos animais apresentaram pequenas áreas de erosão, distribuídas focalmente na mucosa e discreto edema de submucosa. Na análise histopatológica foi possível observar nos animais do grupo 1 alterações discretas caracterizadas por edema de submucosa, presença de infiltrado inflamatório mononuclear multifocal e hipertrofia de células secretoras da mucosa. No grupo 2, edema discreto e congestão moderada da submucosa, leve reatividade de nódulos linfóides e infiltrado mononuclear multifocal moderado. A expressão gênica de conglutina no abomaso de ovinos, naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais, variou conforme a idade dos animais e o tempo de exposição ao agente.

**Órgão de financiamento:** CAPES e CNPq

### Anotações

## PH 112 EXPRESSÃO GÊNICA DE COLECTINAS E GALECTINAS NO ABOMASO DE OVINOS CORRIEDALE INFECTADOS POR *Haemonchus contortus*.

Bárbara Maria Paraná da Silva Souza<sup>1</sup>, Sabrina Mota Lambert<sup>1</sup>, Sandra Mayumi Nishi<sup>1</sup>, Magda Vieira Benavides<sup>2</sup>, Cláudio Roberto Madruga<sup>1</sup>, Maria Angela Ornelas de Almeida<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil; <sup>2</sup> Embrapa LabEx, Beltsville, MD, EUA; bparana@ufba.br

As lectinas e galectinas são proteínas da família das lectinas de mamíferos que possuem a capacidade de reconhecer padrões moleculares associados aos patógenos. Estas proteínas contribuem na resposta imune inata e agem antes da indução da resposta mediada por anticorpo. Estudos em bovinos têm demonstrado a alta expressão dessas proteínas durante infecção por nematóides gastrintestinais. O objetivo do estudo foi avaliar a expressão gênica de conglutina (CGN), proteína surfactante A (SPA), galectinas 14 (Gal 14) e 15 (Gal 15) no abomaso de ovinos naturalmente infectados por *Haemonchus contortus* e correlacioná-los à expressão da interleucina 4 (IL4) e interferon-gama (IFN). Doze ovinos da raça Corriedale foram mantidos em pastagem contaminada com nematóides por doze meses e a partir da contagem do número de parasitos recuperados do abomaso no dia da necropsia foram definidos dois grupos, grupo 1 (G1, n=6) com alto número de parasitos e grupo 2 (G2, n=6) com baixo número. A quantificação da transcrição gênica foi realizada por meio de RT-qPCR no equipamento 7500 Real-Time PCR e corante Sybr Green (GoTaq, Promega) em amostra do abomaso. Para efeito de análise foi utilizado o método de  $\Delta\Delta CT$  e os valores de expressão dos genes alvo foram normalizados frente ao controle endógeno GAPDH (gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase). A contagem de OPG dos grupos G1 e G2 não apresentou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) com valores médios de 7883±6798,94 e 960±1044,34, respectivamente. *H. contortus* foi a única espécie identificada no abomaso, sendo a média de espécimes de 53±28,61 (21-91) para o G1 e de 8±6,40 (0-16) para o G2, sendo esta diferença significativa ( $p=0,00$ ). Foi detectada a indução da expressão dos genes SPA (G1=22,58±1,81; G2=21,47±1,64,  $p=0,29$ ), Gal14 (G1=17,11±1,44; G2=16,05±1,15,  $p=0,19$ ), Gal15 (G1=12,64±3,38; G2=14,11±3,86,  $p=0,50$ ), IL4 (G1=23,49±1,56; G2=23,52±3,34,  $p=0,98$ ), IFN (G1=21,51±1,86; G2=20,51±2,53,  $p=0,45$ ) no abomaso de todos os ovinos, sendo a conglutina o único gene a apresentar diferença estatística entre os grupos (G1=19,18±4,08; G2=16,26±2,64,  $p=0,02$ ). Foi observada associação dos genes CGN ( $r = -0,663$ ;  $p=0,019$ ) e o SPA ( $r = -0,630$ ,  $p=0,028$ ) com o OPG, da Gal14 com o número *H. contortus* adultos ( $r = -0,608$ ,  $p=0,036$ ) e do SPA ( $r = 0,790$ ,  $p=0,002$ ) e da Gal 14 ( $r = 0,755$ ,  $p = 0,005$ ) com IFN. Este é o primeiro estudo, a associar a contagem de OPG e o número *H. contortus* adultos com a expressão de lectinas e galectinas no abomaso de ovinos, sugerindo um possível papel destas proteínas no controle da infecção por nematóides gastrintestinais.

**Órgão de financiamento:** CNPq

### Anotações

## PH 113 EXPRESSÃO GÊNICA DE COLECTINAS E GALECTINAS NO ABOMASO DE CAPRINOS NATURALMENTE INFECTADOS POR NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS.

Bárbara Maria Paraná da Silva Souza<sup>1</sup>, Sabrina Mota Lambert<sup>1</sup>, Sandra Mayumi Nishi<sup>1</sup>, Luiz da Silva Vieira<sup>2</sup>, Cláudio Roberto Madruga<sup>1</sup>, Maria Angela Ornelas de Almeida<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil; <sup>2</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE, Brasil; bparana@ufba.br

As lectinas e galectinas são proteínas da família das lectinas de mamíferos que possuem a capacidade de reconhecer padrões moleculares associados aos patógenos. Trabalhos recentes têm demonstrado a importância destas moléculas na resposta imune inata atuando no reconhecimento de estruturas moleculares na superfície dos nematóides. O objetivo do estudo foi avaliar a expressão gênica de conglutina (CGN), proteína surfactante A (SPA), galectinas 14 (Gal 14) e 15 (Gal 15) no abomaso de caprinos com infecção por nematóides gastrintestinais e correlacioná-los à expressão da interleucina 4 (IL4) e interferon-gama (IFN). Com base na contagem de ovos por grama de fezes, caprinos F2 mestiços de Anglo Nubiano e Saanen, mantidos em pastagem por quatro meses, sem tratamento anti-helmíntico, foram caracterizados como resistentes (n=12) e suscetíveis (n=12). A quantificação da transcrição gênica foi realizada por meio de RT-qPCR no equipamento 7500 Real-Time PCR e corante Sybr Green (GoTaq, Promega) em amostra do abomaso. Para efeito de análise foi utilizado o método de  $\Delta\Delta CT$  e os valores de expressão dos genes alvo foram normalizados frente ao controle endógeno GAPDH (gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase). A contagem de OPG dos grupos resistentes e suscetíveis apresentou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) com valores de 739±399,33 e 1890±1183,85, respectivamente. Não foi observada variação estatística significativa na expressão dos genes CGN ( $R = 20,54 \pm 3,38$ ;  $S = 19,45 \pm 3,57$ ,  $p = 0,45$ ), SPA ( $R = 23,77 \pm 5,30$ ;  $S = 24,40 \pm 2,86$ ,  $p = 0,72$ ), Gal14 ( $R = 15,31 \pm 3,60$ ;  $S = 15,52 \pm 5,79$ ,  $p = 0,91$ ) e Gal15 ( $R = 24,97 \pm 2,51$ ;  $S = 26,16 \pm 3,52$ ,  $p = 0,35$ ) em ambos os grupos, no entanto foi observada correlação dos genes de IL4 com a SPA ( $r = 0,557$ ;  $p = 0,03$ ) e do IFN com a galectina 14 ( $r = 0,674$ ;  $p = 0,00$ ). Este é o primeiro estudo, até o presente momento, a identificar a expressão gênica de conglutina, proteína surfactante A, galectinas 14 e 15 no abomaso de caprinos. A falta de correlação da expressão destes genes no abomaso de caprinos suscetíveis e resistentes provavelmente esteja relacionada ao tempo de exposição à infecção. Outros estudos são necessários para melhor explicar o papel das lectinas e galectinas em caprinos com infecção natural por nematóides gastrintestinais.

**Órgão de financiamento:** CAPES e FAPESB

### Anotações

## PH 114 EVALUACION FARMACO-PARASITOLÓGICA DE TRES LACTONAS MACROCÍCLICAS (IVERMECTINA, ABAMECTINA Y MOXIDECTIN) EN NEMATODES RESISTENTES DE OVINOS

Mercedes Lloberas<sup>1</sup>; Luis Alvarez<sup>2</sup>; Carlos Entrocasso<sup>1</sup>; Mariana Ballent<sup>2</sup>; Bernardino Borda<sup>2</sup>; Guillermo Virkel<sup>2</sup>; Laura Maté<sup>2</sup>; Carlos Lanusse<sup>2</sup>; Adrián Lifschitz<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Parasitología, EEA INTA Balcarce, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio de Farmacología, CIVETAN (CONICET), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA. Tandil, Argentina. labparasitologia@balcarce.inta.gov.ar

Las lactonas macrocíclicas (LM) son drogas antihelmínticas usadas ampliamente para el control de las parasitosis gastrointestinales en ruminantes. Existen evidencias de una creciente resistencia luego su uso masivo en los últimos años. Si bien las LM comparten el mecanismo de acción, se han observado algunas diferencias en la eficacia contra nematodos resistentes. Las bases farmacológicas de estas diferencias deben ser evaluadas. El objetivo del trabajo fue estudiar la relación entre la eficacia clínica de moxidectin (MXD), abamectina (ABM) e ivermectina (IVM) en corderos naturalmente infestados con parásitos resistentes y las concentraciones de las mismas en tejidos de localización parasitaria y en parásitos blanco como *Haemonchus contortus*. Adicionalmente, se estableció el patrón de expresión del transportador glicoproteína-P (gp-P) en *Haemonchus contortus* recuperados de los corderos tratados con cada LM. Se utilizaron 60 corderos, los cuales fueron divididos en un grupo control (sin tratamiento) y en tres grupos que recibieron MXD, ABM e IVM por vía intraruminal (0,2 mg/kg). Se realizó el test de reducción de huevos por gramo de materia fecal y el test de eficacia controlada según los lineamientos de WAAVP. Se tomaron muestras de sangre durante 14 días post-tratamiento para el estudio de cinética plasmática. Cuatro animales de cada grupo fueron sacrificados a los días 0,5, 1 y 2 post tratamiento y se tomaron muestras de mucosa, contenido gastrointestinal y *Haemonchus contortus*. Las concentraciones de droga en plasma, tejidos y parásitos se midieron por HPLC. Los niveles de mRNA de gp-P en *Haemonchus contortus* se cuantificaron por PCR en tiempo real. El test de reducción evidenció una completa falla de IVM y ABM (0% reducción) mientras que MXD alcanzó un 86,8%. La eficacia general fue de 84,8 % (IVM), 90,2 % (ABM) y 98 % (MXD) siendo *Haemonchus contortus* el género donde se manifestó la mayor resistencia. Mientras similar exposición sistémica fue observada para las tres drogas, MXD tuvo una mayor persistencia en sangre ( $p \leq 0,05$ ). Mayores concentraciones de ABM e IVM fueron medidas en los tejidos gastrointestinales y en *Haemonchus contortus* al día 1 y 2 post-tratamiento comparado con MXD ( $p \leq 0,05$ ). El tratamiento con IVM produjo un significativo aumento en la expresión de gp-P en *Haemonchus contortus*. Dicha expresión no fue modificada tras el tratamiento con MXD y ABM. La características diferenciales en la farmacocinética y la farmacodinamia entre las LM deben seguir siendo estudiadas para poder optimizar su uso ante la aparición de cepas resistentes.

### Anotações