



A CITOMETRIA DE FLUXO COMO FERRAMENTA PARA INVESTIGAR A FIBROPAPILOMATOSE EM *Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758) (TESTUDINES, CHELONIIDAE)

Silmara Rossi¹; Alexander Genoy-Puerto¹; Vanessa M. de Sá-Rocha²; Denise Kinoshita¹; Igor M. Zimovski³; Ticiania Zwarg⁴; Max R. Werneck⁵; Luiz Carlos de Sá-Rocha⁶; Eliana R. Matushima⁶.

¹Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada – FMVZ-USP; ²Laboratório de Farmacologia e Toxicologia – FMVZ-USP; ³Técnico do Laboratório de Patologia Comparada de Animais Silvestres – FMVZ-USP; ⁴Iniciação Científica – FMVZ-USP; ⁵Projeto Tamar-Ibama Base Ubatuba/SP; ⁶Departamento de Patologia – FMVZ-USP. rossi.silmara@yahoo.com.br.

A citometria de fluxo permite a análise e medida simultânea das características das células suspensas em um sistema de fluxo e por esse motivo tem sido amplamente utilizada nas pesquisas biológicas e médicas. *Chelonia mydas* é uma tartaruga marinha que frequenta o litoral brasileiro para alimentação e nidificação. A fibropapilomatose, caracterizada por tumores cutâneos benignos (fibropapilomas), atualmente representa uma das mais importantes ameaças à sobrevivência dessa espécie. Pesquisas sugerem o envolvimento de agentes infecciosos virais em associação com fatores ambientais e até genéticos. A avaliação da função dos leucócitos sanguíneos dessas tartarugas torna-se extremamente necessária para uma melhor compreensão da doença. Foram realizados dois experimentos em meses diferentes com amostras sanguíneas de 9 espécimes (5 com e 4 sem fibropapilomas) capturados incidentalmente em redes de pesca ou resgatados de encalhes de praia e entregues aos técnicos do Projeto Tamar-Ibama Base Ubatuba/SP. A punção foi realizada no seio venoso cervical. Foram anotados dados de biometria das tartarugas, tamanho, quantidade e distribuição dos fibropapilomas. As amostras de sangue foram acondicionadas em tubos heparinizados e uma alíquota de 1 mL foi adicionada a um tubo contendo 3 mL de meio de cultura RPMI 1640 Gibco® estéril, transportado sob refrigeração. A técnica utilizada para separação dos leucócitos foi por gradiente de densidade aplicando Ficoll Paque Plus, Amershan Biociences®. Os estímulos aplicados foram miristato acetato de phorbol (PMA) para avaliação de burst oxidativo e Zymosan A (*Saccharomyces cerevisiae*) Bio Particles®, Alexa Fluor® 594 conjugate para avaliação de fagocitose. Resultados demonstraram que a viabilidade celular é mantida pelo RPMI 1640 e que o Ficoll Paque Plus® separa populações de monócitos, linfócitos e heterófilos. Análises pela citometria de fluxo e por meio de lâminas confeccionadas com as amostras após os estímulos demonstraram que os monócitos são as células responsáveis pela fagocitose e burst oxidativo. As análises estatísticas foram realizadas através do teste ANOVA de uma via e do programa Instat® que não considerou diferença significativa entre tartarugas com e sem fibropapilomas. No entanto, a intensidade de burst oxidativo basal e induzido por PMA foi maior em animais com fibropapilomas nos dois experimentos. Observou-se uma intensidade de fagocitose ligeiramente maior nos animais sem fibropapilomas no primeiro experimento e consideravelmente menor no segundo. Esses resultados podem corroborar com as informações obtidas na literatura de que animais com fibropapilomatose apresentam um quadro de imunossupressão, propiciando o surgimento de tal doença.



XXXI CONGRESSO ANUAL DA SOCIEDADE DE ZOOLOGICOS DO BRASIL - SZB
XIV CONGRESSO ANUAL DA "ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE PARQUES ZOOLOGICOS E ACUÁRIOS" - ALPZA
XVI ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS - ABRAVAS

Apoio financeiro: Capes e Fapesp Processos nº 04/13218-5 e 06/52366-5.