

167

VERIFICAÇÃO DA ATIVAÇÃO DE CASPASE POR CEPAS PATOGÊNICAS AVIÁRIAS DE ESCHERICHIA COLI EM MACRÓFAGOS AVIÁRIOS HD 11. *Nicolle Lima Barbieri, Letícia Mater, Fabiana Horn (orient.) (UFRGS).*

Escherichia coli patogênicas aviárias (APEC) causam doenças extraintestinais em aves. As infecções por APEC podem ser iniciadas no trato respiratório superior e atingir os órgãos internos, causando a morte da ave por colisseptissemia, ou podem iniciar a partir de danos na pele, gerando lesões cutâneas e comprometendo as carcaças de frangos de corte. Para causarem a doença ou as lesões, APEC precisam resistir aos sistemas de defesa do hospedeiro. Resultados *in vitro* mostraram que as cepas APEC17 e MT78 induzem a morte apoptótica em macrófagos infectados, e a análise de cortes histológicos de pulmão de aves infectadas com APEC revelou a presença de células positivas para TUNEL (i.e., apoptóticas). O presente trabalho teve por objetivo verificar se a infecção por APEC induziria a ativação das outras caspases envolvidas na rota da indução de apoptose em macrófagos aviários HD11. Para isso, as células HD11 foram infectadas com as cepas APEC17, MT78 e IMT5155 com multiplicidade de 150 bactérias por célula. Após uma hora de infecção, as células foram lavadas e incubadas na presença do antibiótico gentamicina até completar 6 h desde o início da infecção, quando foram lisadas. A atividade das caspases foi medida nos extratos celulares usando-se substratos fluorogênicos específicos para caspase 9, caspase 6, caspase 6/8 e caspase 3/7. Esses experimentos mostraram que a infecção por MT78 induziu, além da atividade da caspase 3/7, a atividade da caspase 6, outra caspase efetora. Por outro lado, essa técnica não detectou a indução das caspases iniciadoras (caspases 8 e 9), pois estão em concentrações menores que as caspases efetoras nas células. Concluímos que APEC, além de induzirem a caspase 3/7, induzem caspase 6, que são caspases necessárias e indicativas para morte apoptótica.