

XXIV SEMANA DO VPT

Leia os resumos da Semana Científica
Prof. Dr. Benjamim Eurico Malucelli,
promovida pelo Departamento de Patologia
da Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da USP

CLÍNICA DE PEQUENOS ANIMAIS

Estudo de caso demonstra evolução
clínica de cão com queimadura
e tratado com mel orgânico tópico

ENSINO

Artigo demonstra os riscos
da importação de peixes ornamentais
com Linfocitose, doença viral
crônica caracterizada por nódulos.
Além de identificar os animais com
sintomatologia clínica condizente,
o trabalho alerta para a importância
de médicos-veterinários capacitados
na área de sanidade de animais aquáticos



Dados internacionais de catalogação na publicação

Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / Publicação do Conselho Regional de Medicina Veterinária. – v. 14, n. 1 (2016) –. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, 1998 – v. : il. ; 28 cm.

Quadrimestral

Continuação de: Revista de Educação Continuada do CRMV-SP, São Paulo, v. 8, n. 2 (2005).
ISSN 2179-6645

1. Medicina veterinária. I. Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo.

Deusa mitológica cercada de animais. Ilustração de Ike Motta baseada no original da Escola de Medicina Veterinária de São Paulo F. Ranzini – 1930

EX LIBRIS



CRMV-SP

Editorial

5 Corpo de revisores

Aquicultura

6 *Lymphocystis* vírus em peixes ornamentais importados para o Brasil

Clínica de Pequenos Animais

12 Uso do mel orgânico tópico no tratamento de queimadura de terceiro grau em cão: relato de caso

18 Diagnóstico de cinomose canina por RT-PCR em amostras de cães do Estado de São Paulo enviadas para o diagnóstico laboratorial da raiva

Clínica de Silvestres

22 Inquérito sorológico para paramixovírus ofídico em serpentes cativas

Ensino

28 A necessidade do fortalecimento do conhecimento humanístico na formação do médico-veterinário: a visão de estudantes do segundo semestre de graduação

Resumos

38 XXIV Semana Científica Prof. Dr. Benjamin Eurico Malucelli

99 Normas para publicação

Uma publicação

Capa: 123RF



CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO – CRMV-SP

DIRETORIA EXECUTIVA

Presidente	Méd. Vet. Mário Eduardo Pulga
Vice-presidente	Méd. Vet. Odemilson Donizete Mossero
Secretário Geral	Méd. Vet. Sílvia Arruda Vasconcellos
Tesoureira	Méd. Vet. Margareth Elide Genovez
Conselheiros Efetivos	Méd. Vet. Alexandre Jacques Louis Develey Méd. Vet. Fábio Fernando Ribeiro Manhoso Méd. Vet. Flávio Massone Méd. Vet. Márcio Rangel de Mello Méd. Vet. Mitika Kuribayashi Hagiwara Méd. Vet. Otávio Diniz
Conselheiros Suplentes	Méd. Vet. Carlos Augusto Donini Méd. Vet. Luís Claudio Nogueira Mendes Méd. Vet. Maria Regina Baccaro Méd. Vet. Mirela Timucci Costa Méd. Vet. Rodrigo Soares Mainardi Zoot. Sullivan Pereira Alves

URFAS
Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Araçatuba
Rua Oscar Rodrigues Alves, 55, 7º andar, sl. 12
Fone: (18) 3622 6156 | Fax: (18) 3622 8520
e-mail: dr.aracatuba@crmvsp.gov.br

Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Araçatuba
Rua Oscar Rodrigues Alves, 55, 7º andar, sl. 12
Fone: (18) 3622 6156 | Fax: (18) 3622 8520
e-mail: dr.aracatuba@crmvsp.gov.br

Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Botucatu
Rua Amando de Barros, 1040
Fone/fax: (13) 3815 6839
e-mail: dr.botucatu@crmvsp.gov.br

Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Campinas
Av. Dr. Campos Sales, 532, sl. 23
Fone: (19) 3236 2447 | Fax: (19) 3236 2447
e-mail: dr.campinas@crmvsp.gov.br

Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Marília
Av. Rio Branco, 936, 7º andar
Fone/fax: (14) 3422 5011
e-mail: dr.marilia@crmvsp.gov.br

Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Presidente Prudente
Av. Cel. José Soares Marcondes, 983, sl. 61
Fone: (18) 3221 4303 | Fax: (18) 3223 4218
e-mail: dr.prudente@crmvsp.gov.br

Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Ribeirão Preto
Rua Visconde de Inhaúma, 490, cj. 306 a 308
Fone/fax: (16) 3636 8771
e-mail: dr.ribeirao@crmvsp.gov.br

Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Santos
Av. Almirante Cochrane, 194, cj. 52
Fone/fax: (13) 3227 6395
e-mail: dr.santos@crmvsp.gov.br

Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – São José do Rio Preto
Rua Marechal Deodoro, 3.011, 8º andar
Fone/fax: (17) 3235 1045
e-mail: dr.riopreto@crmvsp.gov.br

Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Sorocaba
Rua Sete de Setembro, 287, 16º andar, cj. 165
Fone/fax: (15) 3224 2197
e-mail: dr.sorocaba@crmvsp.gov.br

Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Taubaté
Rua Jacques Felix, 615
Fone: (12) 3632 2188 | Fax: (12) 3622 7560
e-mail: dr.taubate@crmvsp.gov.br

REVISTA DE EDUCAÇÃO CONTINUADA EM MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Reconhecida como veículo de divulgação técnico-científica pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), Resolução nº 689, de 25 de julho de 2001.

INDEXAÇÃO
A Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia está indexada na Base de Dados da Biblioteca Nacional de Agricultura (BINAGRI) e na Biblioteca Virtual em Medicina Veterinária e Zootecnia (BVS-Vet).

CONSELHO EDITORIAL

Editor científico
Méd. Vet. Sílvia Arruda Vasconcellos
Editores associados
Méd. Vet. Alexandre Jacques Louis Develey
Méd. Vet. José Cezar Panetta
Méd. Vet. Eduardo Harry Birgel
(Academia Paulista de Medicina Veterinária – Apamvet)

COMISSÃO EDITORIAL

Presidente
Méd. Vet. Sílvia Arruda Vasconcellos
Méd. Vet. Alexandre Jacques Louis Develey

CORPO EDITORIAL AD HOC

Méd. Vet. Ana Carolina Brandão de Campos Fonseca Pinto
Méd. Vet. Angelo João Stopiglia
Méd. Vet. Benedicto Wladimir de Martin
Méd. Vet. José Roberto Kfoury Júnior
Méd. Vet. Waldir Gandolfi

Assessoria de Comunicação

Editor Responsável
Méd. Vet. Sílvia Arruda Vasconcellos
Jornalistas Responsáveis
Lais Domingues – MTB: 59.079/SP e
Palloma Mina – MTB: 68.992/SP
e-mail: comunicacao@crmvsp.gov.br

Sede do CRMV-SP

Rua Apeninos, 1088, Paraíso – São Paulo (SP)
Fone: (11) 5908 4799
Fax: (11) 5084 4907
www.crmvsp.gov.br

Revisão Técnica

Academia Paulista de Medicina Veterinária – Apamvet

Projeto Gráfico

Plínio Fernandes – Traço Leal

Diagramação

Phábrica de Produções

Impressão

Esdeva Indústria Gráfica Ltda.

Periodicidade

quadrimestral

Tiragem

32.000 exemplares

Site

as edições da Revista MV&Z estão disponíveis no site

Distribuição gratuita

<http://revistas.bvs-vet.org.br/recmvz>.

Caro colega,



Fale conosco

comunicacao@crmvsp.gov.br

profissionais, o cenário da aquicultura brasileira não poderia ser melhor. Trata-se de uma grande oportunidade de negócios para médicos-veterinários e zootecnistas.

Nesta edição, também apresentamos um trabalho que discute o aspecto humanístico do ensino da Medicina Veterinária. Nós acreditamos que os profissionais devam buscar conhecimento em campos além do técnico científico para executar suas atividades cotidianas com maestria. Além de saber diagnosticar e tratar um pet, por exemplo, o mercado hoje exige que o profissional saiba lidar com as expectativas e frustrações do proprietário.

Num cenário cada vez mais dinâmico, manter-se atualizado e com todas as competências desenvolvidas é um grande desafio. Para colaborar com os colegas, além do conteúdo científico que você poderá conferir nas próximas páginas e daquele que você já viu no Informativo e nas mídias eletrônicas, estamos preparando uma ferramenta de educação continuada à distância. Aproveite a oportunidade para pedir que o seu cadastro seja atualizado, assim poderemos conversar por todos os canais disponíveis e falar das novidades do seu Conselho de classe em primeira mão.

Boa leitura!

Mário Eduardo Pulga

“Nossas profissões terão a grandeza que dermos a elas. Este desafio é de cada um de nós.”

CORPO DE REVISORES

Adriana Maria Lopes Vieira, CRMV-SP
Agar Costa Alexandrino de Perez, CRMV-SP
Alexandre Jacques Louis Develey, Apamvet/ CRMV-SP
Alexander Welker Biondo, UFPR
Alice Maria Paula Della Libera, FMVZ USP
Ana Cristina Nery de Castro, Méd. Vet. Autônoma
Ana Paula de Araújo, CRMV-SP
Ana Carolina Brandão de Campos Fonseca Pinto, FMVZ-USP
Angelo João Stopiglia, FMVZ-USP / Apamvet
Antonio Carlos Paes, FMVZ-Unesp Botucatu
Antônio Guilherme Machado de Castro, CRMV-SP
Antonio J. Plantino Ferreira, FMVZ-USP
Arani Nanci Bomfim Mariana, Apamvet
Archivaldo Reche Junior, FMVZ-USP
Arsênio Baptista, Med. Vet. Autônomo
Benedicto Wladimir de Martin, Apamvet
Bruno Machado Bertassoli, UFMG
Cáris Maroni Nunes, UNESP Araçatuba
Carla Bargi Belli, FMVZ-USP
Carlos Alberto Hussini, FMVZ-Unesp Botucatu
Carlos Eduardo Larsson, CRMV-SP
Carlos Eduardo Malavasi Bruno, FMVZ-USP
Célia Regina Orlandelli Carrer, CRMV-SP
Ceres Berger Faraco, Amvebebea
Cintia Aparecida Lopes Godoy-Esteves, Hospital Veterinário Santa Inês
Cláudia Barbosa Fernandes, FMVZ-USP
Cláudia Rodrigues Emílio de Carvalho, Med. Vet. Autônoma
Cláudio Ronaldo Pedro, CRMV-SP
Daniel G. Ferro, FMVZ-USP
Édson Ramos de Siqueira, FMVZ-Unesp Botucatu
Eduardo Harry Birgel, Apamvet
Eduardo Harry Birgel Junior, FZEA-USP Pirassununga
Elana Kobayashi, CRMV-SP
Elana Roxo, Instituto Biológico

Éverton Kort Kamp Fernandes, UFG
Fábio Fernando Ribeiro Manhoso, UNIMAR - SP
Fábio Gregori, FMVZ-USP
Fernando José Benesi, FMVZ-USP
Flávio Massone, FMVZ-Unesp Botucatu
Fumio Honma Ito, FMVZ-USP
Gilson Hélio Toniolo, FCAV-Unesp Jaboticabal
Helenice de Souza Spinosa, FMVZ-USP
Henrique Luis Tavares, CRMV-SP
João Palermo Neto, FMVZ-USP
John Furlong, Embrapa
José Antonio Jerez, FMVZ-USP
José Antônio Visintin, FMVZ-USP
José de Angelis Côrtes, Apamvet
José Henrique Ferreira Musumeci, Med. Vet. Autônomo
José Rafael Modolo, CEVA Saúde Animal
José Roberto Kfoury Júnior, FMVZ-USP
Josete Garcia Bersano, Instituto Biológico
Júlia Maria Matera, FMVZ-USP
Karime Cury Scarpelli, CRMV-SP
Leonardo Brandão, CEVA Saúde Animal
Luiz Cláudio Lopes Correa da Silva, FMVZ-USP
Luiz Carlos Vulcano, FMVZ-Unesp Botucatu
Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães, FMVZ-USP
Marcelo Bahia Labruna, FMVZ-USP
Marcelo da Silva Gomes, CRMV-SP
Marcelo Monte Mór Rangel, Vet Câncer
Márcia Mery Kogika, FMVZ-USP
Márcio Corrêa, UFPEL
Márcio Garcia Ribeiro, FMVZ-Unesp Botucatu
Márcio Rangel de Mello, CRMV-SP
Marco Antônio Leon-Roman, FMVZ-USP
Marcos Veiga dos Santos, FMVZ-USP
Maria Angélica Miglino, FMVZ-USP

Maria Cláudia Araripe Sucupira, FMVZ-USP
Maria de Lourdes A. Bonadia Reichmann, CRMV-SP
Mario Eduardo Pulga, CRMV-SP
Maristela Pituco, Instituto Biológico
Milton Kolber Unip Unimes Unisa, UNIP/Unimes/Unisa
Mitika Kuribayashi Hagiwara, Apamvet/ CRMV-SP
Nádia Maria Bueno Fernandes Dias, CRMV-SP
Nilson Roberti Benites, CRMV-SP
Odemilson Mossero, MAPA
Paulo Anselmo Nunes Filippi, Zoológico de Campinas
Paulo Eduardo Brandão, FMVZ-USP
Paulo Francisco Domingues, FMVZ-Unesp Botucatu
Paulo Marcelo Tavares Ribeiro, CRMV-SP
Paulo Sérgio de Moraes Barros, FMVZ-USP
Raimundo de Souza Lopes, FMVZ-Unesp Botucatu
Ricardo Moreira Calil, CRMV-SP
Rita de Cássia Maria Garcia, CRMV-SP
Roberto Calderon Gonçalves, FMVZ-Unesp Botucatu
Roberto de Oliveira Roça, FMVZ-Unesp Botucatu
Saritá Bonagurio Gallo, FZEA-USP Pirassununga
Silvia Ferrari, Universidade Anhembis Morumbi
Sílvia Arruda Vasconcellos, CRMV-SP
Sílvia Marcy dos Santos, Instituto Biológico
Solange Maria Gennari, FMVZ-USP
Sonia Regina Pinheiro, FMVZ-USP
Sony Dimas Bicudo, FMVZ-Unesp Botucatu
Stélio Pacca Loureiro Luna, FMVZ-Unesp Botucatu
Tália Missen Tremori, FMVZ-Unesp Botucatu
Terezinha Knöbl, FMVZ-USP
Vicente Borelli, Apamvet
Viviani Gomes, FMVZ-USP
Waldir Gandolfi, Apamvet
Wilson Roberto Fernandes, FMVZ-USP

Lymphocystis vírus em peixes ornamentais importados para o Brasil

Lymphocystis virus in ornamental fish imported in Brazil

Resumo

Linfocitose é uma doença viral crônica encontrada em peixes de água doce e marinha, caracterizada por nódulos principalmente na pele e/ou nadadeiras. É a doença viral mais comum nos peixes de aquário. O objetivo do presente estudo de caso foi identificar os animais com sintomatologia clínica condizente com infecção por *Lymphocystis* vírus, em um estabelecimento importador de organismos aquáticos ornamentais, além de alertar para a importância de médicos veterinários capacitados na área de sanidade de animais aquáticos, relativamente a um agente pouco explorado nessa área no Brasil. Um total de dezessete peixes ornamentais foram estudados durante o período de quarentena, no qual apresentaram sinais clínicos da doença, confirmada por análise microscópica. Todos os peixes apresentaram células fibroblásticas de tamanho aumentado, típicas de *Lymphocystis* vírus.

As lesões foram removidas com lâmina de bisturi e os peixes foram tratados com antibiótico em um aquário hospital por sete dias para prevenir contra infecções bacterianas secundárias. Após trinta dias, os peixes estavam completamente curados e disponíveis para venda. Este relato reforça a importância de hábitos de boas práticas de higiene e manipulação, além do fornecimento de treinamentos aos profissionais que manipulam diretamente os animais comercializados, a fim de diminuir situações desnecessárias de estresse e, conseqüentemente, o surgimento de doenças oportunistas. A capacitação de médicos veterinários na área de sanidade de animais aquáticos permitirá que os mesmos executem um trabalho eficiente de prevenção e controle de doenças em peixes ornamentais, essencial para a sobrevivência do setor.

Summary

Lymphocystis is a chronic viral disease found in both fresh and marine water fishes, characterized by nodules that typically appear on the skin or fins. *Lymphocystis* is the most common viral infection of ornamental fish. This study aimed to identify fish showing clinical signs of *Lymphocystis* virus in an ornamental fish importation company and to highlight the importance of involving veterinary doctors to assure the health of ornamental fish, a relatively unexplored practice in Brazil. Seventeen ornamental fishes studied during quarantine presented with clinical signs of the disease, confirmed after microscopic analysis. Every single fish presented with enlarged fibroblastic cells typical of the *Lymphocystis* virus. In this case, lesions were removed with a scalpel blade and the fish were treated with an antibiotic in a hospital aquarium for seven days. Thirty days later, the fish were healthy and ready for sale. The study also reinforces the fact that it is extremely important to provide the staff with examples of good practices in handling fishes, provide the technical team with professional training, and avoid situations of stress on fishes in order to restrain opportunistic diseases. The enablement of veterinary doctors in establishments that trade aquatic ornamental fishes is also essential to allow them to perform their work in prevention and disease control.



Palavras-chave

Lymphocystis.
Saúde animal. Peixes ornamentais. Importados.
Médicos veterinários.

Keywords

Lymphocystis virus.
Ornamental fish. Imported fish.

A indústria dos peixes ornamentais é caracterizada pela agregação de numerosas espécies de diversos lugares do mundo. A translocação de peixes ornamentais pode trazer consigo agentes patogênicos que causam problemas tanto para peixes ornamentais quanto de consumo. Os governos de muitos países preocupados com a introdução de agentes exóticos e prejudiciais às espécies nativas, adotam medidas de quarentena no intuito de mitigar riscos da introdução de doenças dos peixes importados (WHITTINGTON; CHONG, 2007). Desde 2008, a importação de peixes ornamentais para Brasil só é possível por meio de quarentenários credenciados pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (BRASIL, 2008).

Lymphocystis é uma doença viral crônica (LCDV), membro da família Iridoviridae. A doença já foi relatada em mais de 125 espécies de peixes de água doce e marinhos de mais de 34 famílias. Espécies menos desenvolvidas como *catfishes*, ciprinídeos e salmonídeos não são susceptíveis ao vírus (ANDERS, 1989).

Infecções pelo vírus resultam em nódulos ou verrugas mais comumente nas nadadeiras e pele embora outros órgãos como as brânquias possam ser acometidos. É uma doença relativamente comum em peixes ornamentais de aquários e geralmente ocorre quando os peixes são submetidos a longos períodos de estresse, relacionados a má qualidade de água, transporte inadequado, más práticas de aquicultura, nutrição deficiente, entre outros fatores. (PIRARAT et al., 2011; RAHMATI-HOLASOO et al., 2010)

¹ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Em estágios iniciais, os nódulos causados pelo vírus *Lymphocystis* podem ser relativamente pequenos e são confundidos com outros agentes patogênicos como *Ichthyophthirius multifiliis* em peixes de água doce, *Cryptocaryon irritans* em peixes de água salgada ou por altas infestações de *Epistylis* (YANONG, 2013). Embora os mecanismos de transmissão não sejam completamente elucidados, o contato direto de peixe para peixe é a rota clássica mais aceita de infecções por LCDV; sendo a pele e nadadeiras as principais portas de entrada. Estudos recentes sugerem que rotíferos também podem servir como vetores do vírus (CANO et al., 2013).

O gênero *Lymphocystivirus* é considerado o de menor patogenicidade na família Iridoviridae e não causa altas taxas de mortalidade, porém, provoca deficiências no crescimento do peixe, e as lesões podem ter aspecto repugnante, não sendo possível a sua comercialização. Outros gêneros da família como *Ranavirus* e *Megalocytivirus* causam doenças mais severas, com altas taxas de mortalidade (XU; FENG; HUANG, 2014).

O estudo de caso teve por objetivo identificar microscopicamente os peixes que apresentavam sintomatologia condizente com o agente *Lymphocystis* vírus em um estabelecimento importador de peixes ornamentais e alertar para a importância do médico veterinário que, no Brasil, é pouco explorado na área de sanidade de peixes ornamentais.

Descrição do caso

No mês de março de 2015, um total de 17 peixes ornamentais marinhos importados dos Estados Unidos, apresentou lesões nodulares esbranquiçadas no corpo e nadadeiras (Figura 1) durante o período de quarentena em um estabelecimento credenciado para importação. Dentre as espécies acometidas estavam *Chelmon rostratus* (n=6), *Forcipiger flavissimus* (n=3), *Zebrasoma flavescens* (n=3) e *Zebrasoma veliferum* (n=5). Todas as lesões foram delicadamente removidas com lâmina de bisturi, e, em seguida, analisadas em microscópio óptico na objetiva de 4, 10 e 20x. Após análise, 100% dos animais apresentaram agrupamentos de células fibroblásticas (Figura 2) característicos da lesão causada por *Lymphocystis* vírus (NOGA, 2010). Os nódulos foram removidos com lâmina de bisturi e os animais foram transferidos para um aquário hospital, onde foram submetidos a tratamento preventivo contra infecções bacterianas secundárias com sulfato de neomicina 6g/100 litros, durante cinco dias. Durante esse período, a alimentação foi oferecida de forma variada cinco vezes ao dia, permitindo abundância de nutrientes. Com exceção de três peixes da espécie *Chelmon rostratus* que morreram, possivelmente por não adaptação ao novo ambiente, todos os demais se recuperaram das lesões causadas e, após 30 dias, já estavam disponíveis e expostos para venda.



Figura 1 - A: Lesão nodular na nadadeira caudal de *Forcipiger flavissimus*

B: Múltiplos nódulos disseminados na superfície direita do corpo de *Zebrasoma veliferum*

Fonte: Pedro Henrique Magalhães Cardoso

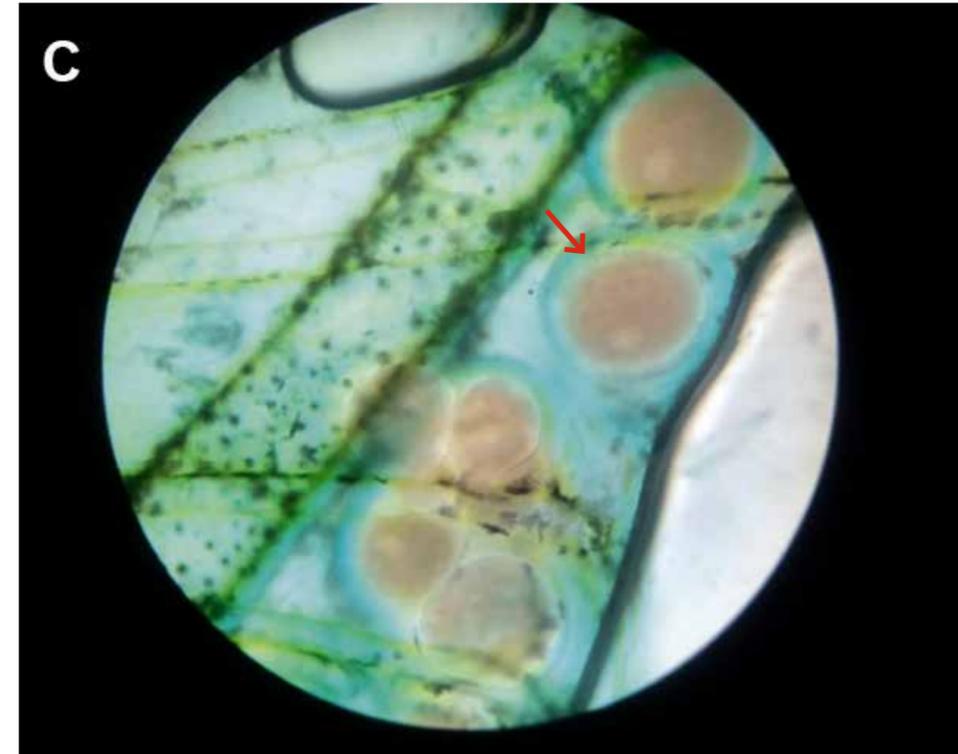


Figura 2 - C: Lâmina a fresco. Vista microscópica (aumento de 20x) de nódulos nas nadadeiras de *Forcipiger flavissimus*.

D: Lâmina a fresco. Vista microscópica (aumento de 10x) de nódulos de raspagem de pele de *Zebrasoma veliferum*

Fonte: Pedro Henrique Magalhães Cardoso

Discussão e conclusão

Embora *Lymphocystis* vírus pertença à família Iridoviridae, é considerado de menor patogenicidade do que outros iridovírus relativos como *Ranavirus* e *Megalocitivirus* que causam doenças sistêmicas graves com altas taxas de mortalidade (ZHANG et al., 2006). LCDV é relativamente comum em peixes de aquários submetidos a situações de estresse (PIRARAT et al., 2011; RAHMATI-HOLASOO et al., 2010; XU et al., 2011). No presente relato, foram quatro espécies de peixes marinhos importados, de duas diferentes famílias em um mesmo lote de quarentena que apresentaram lesões nodulares pelo corpo e nadadeiras, todas identificadas microscopicamente como *Lymphocystis*. As lesões nodulares são agrupamentos de células fibroblásticas infectadas e alteradas que tem seu tamanho aumentado. No seu interior estão partículas virais que após concluírem o processo de replicação provocam o rompimento da célula e a liberação de vírus para o ambiente (XU; FENG; HUANG, 2014). Os sinais clínicos mais evidentes são o aparecimento de verrugas ou nódulos de tamanho pequeno a moderado com formato irregular mais frequentes na pele e nadadeiras e também nas brânquias, que em estágios avançados da doença, podem comprometer a respiração.

Muitas vezes, os peixes estão infectados pelo vírus, porém não são identificadas as lesões macroscópicas. Em estágios iniciais, a doença pode ser confundida com outras patologias tais como a causada por *Ichthyophthirius multifiliis*, em peixes de água doce; por *Cryptocaryon irritans*, em peixes de água salgada; trematódeos digenéticos ("vermes") ou infecção por *Epistylis*, além de outras infecções fúngicas e alguns tipos de tumores (YANONG, 2013).

Após algumas semanas, as lesões provocadas pelo *Lymphocystis* vírus podem desaparecer, porém, é necessário que o animal tenha água com parâmetros ideais de qualidade, principalmente com baixos níveis de amônia; receba uma alimentação balanceada; que o estabelecimento adote boas práticas de higiene e manejo; e evite a superpopulação de aquários, de modo a reduzir ao máximo ou eliminar estresse desnecessário. Apesar da taxa de mortalidade da doença ser relativamente baixa, peixes doentes disseminam o agente, perpetuando-o no sistema. Peixes com lesões só poderão ser comercializados após estarem completamente curados.

Na logística de comercialização, os peixes frequentemente expressam alterações de comportamento e desenvolvem lesões a partir de situações de estresse que permitem a fácil instalação de agentes patogênicos e oportunistas. O estresse é decorrente de problemas

pós-captura, transporte ou parâmetros de água com má qualidade, entre outros (DAVIS; GRIFFIN; GRAY, 2002). Sempre que são recebidos peixes no estabelecimento comercial é obrigatório respeitar um período mínimo de quarentena. Para quarentenários credenciados para importação no Brasil, o período é de no mínimo sete dias (BRASIL, 2008), porém para alguns agentes, como *Lymphocystis* vírus, esse período pode não ser suficiente já que é uma doença de evolução crônica e períodos maiores que duas semanas seriam necessários para o aparecimento dos primeiros sinais clínicos.

É necessário dispor de equipe técnica capacitada para a correta prática e manuseio dos animais. Os indivíduos acometidos devem ser removidos do sistema e isolados na tentativa de redução da disseminação e severidade da doença e, quando possível, as lesões devem ser removidas com um bisturi. Equipamentos usados para manusear os animais devem ser corretamente higienizados com produtos eficientes e regulamentados.

Todos os estabelecimentos que comercializam peixes ornamentais devem seguir as boas práticas de manejo, manter equipe técnica altamente capacitada e consciente da importância da sua atividade, registrar todos os eventos de caráter sanitário dentro do estabelecimento e reduzir ao máximo as situações de contaminação cruzada e estresse para os animais.

É importante que o consumidor adquira animais de estabelecimentos regulamentados e que tenham certificação de qualidade. Quando ocorrer algo de anormal, é necessário um profissional capacitado para fornecer a orientação das atitudes que o consumidor deve tomar. Assim sendo, é extremamente importante salientar o importante papel do médico veterinário no setor dos peixes ornamentais em relação a sanidade. No Brasil, assuntos relacionados a sanidade de peixes ornamentais é ausente na maioria das universidades. É necessária a criação de legislações mais rígidas, que exija a presença integral de médicos veterinários em estabelecimentos de aquicultura. Isso poderia reduzir drasticamente a disseminação de doenças e contribuiria de forma significativa para pesquisas em saúde e bem estar dos peixes ornamentais. ☺

Referências

- ANDERS, K. Lymphocystis disease of fishes. In: AHNE, W.; KURSTAK, D. (Ed.). **Viruses of lower vertebrates**. Berlin: Springer, 1989. p. 141-160.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 18, de 13 de maio de 2008. Estabelece os procedimentos para importação de animais aquáticos para fins ornamentais e destinados à comercialização. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 13 maio 2008. Seção 1, p. 13. Disponível em: http://www.aquorio.com/aqr/pdf/in18_2008.pdf. Acesso em: 3 mar. 2015.
- CANO, I. et al. Transmission of lymphocystis disease virus to cultured gilthead seabream, *Sparus aurata* L., larvae. **J. Fish Dis.**, Oxford, v. 36, n. 6, p. 569-576, Jun. 2013.
- DAVIS, K. B.; GRIFFIN, B. R.; GRAY, W. L. Effect of handling stress on susceptibility of channel catfish *Ictalurus punctatus* to *Ichthyophthirius multifiliis* and channel catfish virus infection. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 214, n. 1-4, p. 55-66, Nov. 2002.
- NOGA, E. J. **Fish disease: diagnosis and treatment**. 2nd ed. Iowa: Wiley Blackwell, 2010.
- PIRARAT, N. et al. Lymphocystis disease in cultured false clown anemonefish (*Amphiprion ocellaris*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 315, n. 3-4, p. 414-416, May 2011.
- RAHMATI-HOLASOO, H. et al. Lymphocystis in a flower horn fish. **Comp. Clin. Pathol.**, London, v. 19, n. 4, p. 433-435, July 2010.
- WHITTINGTON, R. J.; CHONG, R. Global trade in ornamental fish from an Australian perspective: the case for revised import risk analysis and management strategies. **Prev. Vet. Med.**, Amsterdam, v. 81, n. 1-3, p. 92-116, Sept. 2007.
- XU, G. et al. Effect of temperature on immune response of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) to inactivated lymphocystis disease virus (LCDV). **Fish Shellfish Immunol.**, London, v. 30, n. 2, p. 525-531, Feb. 2011.
- XU, L.; FENG, J.; HUANG, Y. Identification of lymphocystis disease virus from paradise fish *Macropodus opercularis* (LCDV-PF). **Arch. Virol.**, Wien, v. 159, n. 9, p. 2445-2449, Sept. 2014.
- YANONG, R. P. E. Lymphocystis Disease in Fish 1. In: UNIVERSITY of Florida. Institute of Food and Agricultural Sciences. Florida Cooperative Extension Service. School of Forest Resources and Conservation. Program in Fisheries and Aquatic Sciences. **[Document FA181]**. Florida: University of Florida, 2013. p. 1-4. Disponível em: <https://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/FA/FA18100.pdf>. Acesso em: 23 maio 2015.
- ZHANG, Q. Y. et al. Molecular characterization of three *Rana grylio* virus (RGV) isolates and *Paralichthys olivaceus* lymphocystis disease virus (LCDV-C) in iridoviruses. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 251, n. 1, p. 1-10, Jan. 2006.

Uso do mel orgânico tópico no tratamento de queimadura de terceiro grau em cão: relato de caso

Andrés Sebastian ARISTIZABAL¹;

Ayne Murata HAYASHI¹;

Julia Maria MATERA¹

Use of organic honey for the topic treatment of a third-degree skin burn in a dog - Case Report

Resumo

O uso tópico do mel oferece considerável benefício nos cuidados de feridas como o estímulo de crescimento tecidual, aumento na epitelização e formação mínima de cicatriz. Estes efeitos decorrem da sua acidez, presença de peróxido de hidrogênio, efeito osmótico e conteúdo anti-oxidante. Uma cadela da raça labrador, de quatro anos, apresentou uma ferida que se estendia da região toraco-abdominal lateral esquerda até a região sacra, ocasionada por uma queimadura de terceiro grau devido ao uso de colchão térmico elétrico. Após o debridamento do tecido necrosado e antibioticoterapia por dez dias, foi iniciado o uso de curativo com mel orgânico tópico, aplicado sob a forma pura com auxílio de gaze, duas vezes ao dia. Após a aplicação do mel, a região foi mantida com bandagem compressiva. A lesão apresentou boa evolução da cicatrização, com epitelização e formação de tecido de granulação após 15 dias do início do tratamento, não havendo necessidade da realização da técnica cirúrgica de reconstrução para o fechamento do defeito da pele. O mel é uma opção de baixo custo e de fácil uso pelo proprietário, após o debridamento da lesão e antibioticoterapia instituídos pelo profissional veterinário.

Summary

The use of honey provides considerable benefit in wound care as a stimulus for tissue growth, increased epithelialization, and reduced scar formation. These effects are due to its acidity, the presence of hydrogen peroxide, osmotic effect, and anti-oxidant content. A four-year-old canine Labrador showed an extensive wound around the left thoracoabdominal area as the result of a third-degree burn due to the use of an electrical thermal mattress. After debridement of the necrotic tissue and ten days of antibiotic therapy, the use of a topical dressing with organic honey was begun, twice a day, with pure honey applied with surgical gauze and protected with a dressing. The injury progressed with good healing, with epithelialization and formation of granulation tissue after 15 days of treatment, and no need for surgical skin reconstruction. Thus, honey is a low-cost and easy-to-use option for the animal's owner, after debridement and antibiotic therapy established by the veterinarian.



Palavras-chave

Mel orgânico. Queimaduras.
Cães. Pele. Cicatrização.

Keywords

Organic honey. Burn.
Canine. Skin. Healing.

As queimaduras ocorrem quando a energia térmica é aplicada a uma velocidade superior a que o tecido pode absorver e dispersar. Os tipos de queimadura podem ser por calor (fogo, objetos ou líquidos quentes), por temperaturas frias, exposição a condições úmidas ou frias), elétricas (contato da pele com fontes elétricas), químicas (substâncias irritantes ou produtos industriais), por radiação (sol) e por abrasão (fricção ou contato). Podem ser classificadas de acordo com o acometimento da espessura da pele. Queimadura superficial ou de primeiro grau afeta apenas a epiderme; queimadura de espessura profunda parcial ou de segundo grau causa maior destruição da derme e queimadura de espessura completa ou de terceiro grau destrói todas as estruturas da pele formando uma camada marrom escura e insensível (FOSSUM, 2008).

As feridas por queimadura são geralmente de difícil tratamento e podem ter custo alto quando tratadas pela forma tradicional (SAHIN et al., 2011), principalmente as de terceiro grau de grande extensão e que muitas vezes necessitam de uma intervenção cirúrgica reconstrutiva da pele.

O mel tem sido utilizado por vários séculos para o tratamento tópico das feridas, inclusive nas queimaduras e úlceras (LUSBY; COOMBES; WILKINSON, 2002). Mel, em chinês *Feng Mi*, é considerado na medicina herbal chinesa, por via oral, como tratamento

adjutório para asma, constipação, gengivite e estomatite ulceradas, além disso, aumenta a motilidade gastrointestinal e protege o fígado. Pela matéria médica chinesa, o mel apresenta propriedades neutras e sabor doce com ações nos meridianos e órgãos como o pulmão, intestino grosso e baço (XIE; PREAST, 2010).

O mel é uma mistura de açúcares produzida pelas abelhas a partir do néctar, que é uma substância obtida das flores. Este néctar é transportado para a colmeia, onde passa por mudanças em sua concentração e composição química e posterior armazenamento. Durante o transporte ocorrem secreções de várias glândulas, principalmente hipofaríngeas e que acrescentam várias substâncias. Desta forma, pela adição de enzima e pela evaporação da água contida no néctar, as abelhas o convertem num líquido doce e viscoso. Os compostos básicos do mel são o açúcar (monossacarídeos frutose e glicose – 80%, dissacarídeos sacarose e maltose- 10%), minerais e enzimas como a catalase, fosfatase, invertase (alfa-glicosidase), diatase (alfa e beta-amilase) e glicose oxidase (SUBRAHMANYAM, 2007).

Dentre as propriedades do mel estão incluídas a redução de formação de exsudato, redução da inflamação, debridamento natural, neutralização do odor da ferida, estímulo a formação e o crescimento do tecido de granulação, levando a cicatrização da ferida; possui também efeito antimicrobiano (VANDAMME et al., 2013).

O mel também proporciona um ambiente úmido na ferida e gera condições favoráveis para a sua cicatrização. As propriedades antimicrobianas do mel são atribuídas a alguns dos seus componentes como o peróxido de hidrogênio, bem como aos elevados níveis de açúcar que geram alta osmolaridade com o consequente efeito higroscópico e baixo pH (AL-WAILI; SALOM; AL-GHAMDI, 2011; KWAKMAN et al., 2010). Os benefícios do mel na cicatrização de feridas incluem o estímulo ao crescimento tecidual, o aumento da epitelização e a minimização da formação de cicatriz que pode estar associada ao fato do mel diminuir os níveis de prostaglandina e aumentar os produtos finais oriundos do óxido nítrico (AL-WAILI; SALOM; AL-GHAMDI, 2011).

O mel utilizado com fins terapêuticos é altamente viscoso. Há dois tipos de mel aprovados com finalidades terapêutica “Medi-honey (Capilano, Australia)” e “Active Manuka Honey (Nova Zelândia), sendo que a sua esterilização realizada por radiação gama (LUSBY; COOMBES; WILKINSON, 2002).

São poucos os relatos em medicina veterinária de uso de mel para o tratamento tópico em queimadura. Rooster e Declercq (2008) relataram o uso do mel no manejo de feridas complicadas após miíase, granuloma por lambadura, trombose e posterior necrose cutânea, queimadura

química e fístula paraprepucial pós-operatória. Mathews e Binnington (2002) relataram o uso do mel em queimaduras (n=2) seguido de intervenção cirúrgica reconstrutora. Todos os autores observaram que pacientes apresentaram facilidade para a remoção do tecido necrosado, diminuição do tamanho da ferida, tecido sadio de granulação, crescimento de pelame normal no local da ferida, bem como, melhora no odor e necrose.

O presente artigo tem como objetivo descrever a efetividade do mel orgânico no tratamento coadjuvante em queimadura de terceiro grau e sem a necessidade de intervenção cirúrgica reconstrutora da pele.

Relato de Caso

Foi atendido no Serviço de Cirurgia de pequenos animais do Departamento de Cirurgia da FMVZ/USP, um cão da raça Labrador, fêmea com quatro anos de idade, 22 kg, cuja queixa do proprietário era de que o animal tinha sido submetido a ovariosalpingohisterectomia há 15 dias, apresentando quadro de hemorragia pós-operatória. A cadela foi levada à outra instituição para realização de laparotomia exploratória e, devido ao seu estado crítico, foi colocada sobre um colchão térmico elétrico no pós-operatório. Após cinco dias do segundo procedimento cirúrgico, o animal apresentou aumento de volume circular na região tóraco abdominal esquerda, alopecia disseminada e secreção serosanguinolenta. A região foi submetida ao debridamento em camadas com auxílio de bisturi lâmina 10, e a seguir lavada copiosamente. Quando avaliado no primeiro atendimento, foi observado no exame clínico que o animal apresentava uma solução de continuidade da pele com presença de tecido cutâneo necrosado que comprometia aproximadamente 20% da sua superfície corpórea (Figura 1).



Figura 1 - Cão da raça Labrador de quatro anos de idade com queimadura de terceiro grau e necrose de pele na região lateral tóraco abdominal esquerda, após o primeiro debridamento

Fonte: Aristizabal, Hayashi e Matera.

Foi realizada sedação via intramuscular com acepromazina (0,03mg/kg) e meperidina (4mg/kg) e posterior lavagem com NaCl 0.9% e debridamento da ferida. Foi receitado metronidazol 15 mg/Kg/BID/10 dias, cefalexina 20 mg/Kg/BID/10 dias, ranitidina 2 mg/Kg/BID/10 dias, dipirona 25 mg/Kg/BID/7 dias, tramadol 3 mg/Kg/BID/7 dias e carprofen 1 mg/Kg/BID/4 dias. O animal retornou no terceiro dia após iniciado o tratamento e apresentava áreas de necrose tecidual. Foi realizada nova limpeza e debridamento sem sedação. No sétimo dia, o proprietário referiu melhora no estado geral, e foi iniciado o tratamento tópico com o emprego de mel orgânico (Taeq®) puro, aplicado com uma gaze duas vezes ao dia formando uma capa que cobria toda a ferida recoberta com curativo de proteção. Após 15 dias do início do tratamento com o mel orgânico, a ferida já se encontrava com boa evolução da cicatrização, conforme se observa na figura 2.



Figura 2 - Tecido de granulação saudável e fase inicial de epitelização no 15º dia de aplicação de mel orgânico

Fonte: Aristizabal, Hayashi e Matera.

No 45º dia, a ferida se encontrava com as bordas quase aproximadas, limpa, seca e sem odor forte. Após cinco meses, o animal apresentava fechamento completo da área anteriormente lesionada com crescimento do pelo, exceto na área central onde apresentava cicatriz. Assim sendo, não foi necessária a realização de anaplastia para reconstrução de defeito cutâneo (Figura 3).



Figura 3 - Cicatrização completa da queimadura após cinco meses de tratamento
Fonte: Aristizabal, Hayashi e Matera.

Discussão

Pode-se observar que o mel, além de sua qualidade como alimento, é dotado de inúmeras propriedades terapêuticas e usado pela medicina popular sob diversas formas e associações. Os bons resultados na cicatrização e epitelização desta ferida por queimadura grave relatada confirmam o seu uso em potencial na área veterinária.

No Brasil, o mel medicinal ainda não é comercializado e, por esta razão, não pode ser utilizado no presente caso. Optou-se então pelo uso do mel orgânico, pois de acordo com Mathews e Binnington (2002), qualquer mel não submetido a pasteurização tem os seus componentes ativos importantes, como o peróxido de hidrogênio, preservados e pode ser eficaz no tratamento de feridas. Assim sendo, foi demonstrado que o mel produzido em diferentes áreas geográficas apresenta efeitos terapêuticos consideráveis para as feridas cutâneas (AL-WAILI; SALOM; AL-GHAMDI, 2011).

A ferida da cadela do presente trabalho apresentou cicatrização satisfatória, não desenvolveu infecção bacteriana, o tecido necrótico foi removido ambulatoriamente sem a necessidade de intervenção cirúrgica, não apresentou reação alérgica nem efeitos colaterais e o manejo do curativo com mel foi facilmente realizado pelo proprietário e bem tolerado pelo paciente, condições estas também observadas por Mathews e Binnington (2002) e Rooster e Declercq (2008). De fato, Rooster e Declercq (2008) ressaltam que, apesar do mel orgânico não ter a composição exata do mel medicinal, ele deve ser utilizado frio, pois o calor pode destruir a atividade antimicrobiana responsável pela formação de peróxido de hidrogênio, já que a enzima responsável pela sua formação é destruída.

Subrahmanyam (1991), comparando a evolução de curativos efetuados com mel ou com sulfadiazina de prata, constatou que o curativo com mel mostrou taxa de cicatrização mais rápida e formação de tecido de granulação em

maior número de pacientes quando comparado a sulfadiazina de prata. Além disso, os pacientes tratados com mel tiveram menos dor, irritação e contração da ferida durante o processo de cicatrização. Estudo *in vitro* (BOEKEMA; POOL; ULRICH, 2013) confirmou o uso de composto de gel com 40% de mel comparado com creme a base de sulfadiazina de prata, sendo que o primeiro resultou em maior e significativa epitelização. No presente caso, houve boa granulação e não ocorreu retração da ferida, além disso não houve a necessidade de realização de anaplastia.

Os efeitos gerais do mel na cicatrização de feridas incluem: maior contração da ferida, promoção de formação de tecido de granulação, promoção de epitelização da ferida, estímulo de crescimento tecidual e síntese de colágeno, estímulo ao desenvolvimento de novos vasos sanguíneos no leito da ferida, redução de adesão pós-operatória, redução do edema e inflamação, deodorização das feridas, umedecimento da ferida em cicatrização, facilitação do debridamento, redução da dor (AL-WAILI; SALOM; AL-GHAMDI, 2011). No presente caso, os principais aspectos a serem destacados foram a rápida epitelização, sem que houvesse interrupção do processo e a boa aproximação dos bordos da ferida com rápida contração.

Por causa da dificuldade e o custo do tratamento convencional das queimaduras extensas e sem possibilidades de anaplastia, o uso do mel apresenta-se como uma opção vantajosa e econômica que pode evitar complicações decorrentes da falta de manejo adequado por parte do proprietário o que contribui para prevenir a ocorrência de consequências menos favoráveis tais como a amputação do membro afetado ou a eutanásia. Atualmente com o uso de diversos antibióticos, o uso do mel pode ser uma opção terapêutica favorável em casos de resistência bacteriana em feridas crônicas.

Conclusão

O mel orgânico pode ser usado no tratamento das queimaduras de terceiro grau, permitindo o manejo a baixo custo, de forma prática e simples para aplicação domiciliar. 🍯

Referências

- AL-WAILI, N.; SALOM, K.; AL-GHAMDI, A. A. Honey for wound healing, ulcers, and burns; data supporting its use in clinical practice. **Scientific World J.**, Boynton Beach, FL, v. 11, p. 766-787, Apr. 2011.
- BOEKEMA, B. K.; POOL, L.; ULRICH, M. M. The effect of a honey based gel and silver sulphadiazine on bacterial infections of in vitro burn wounds. **Burns**, [Guildford, Surrey, UK], v. 39, n. 4, p. 754-759, Jun. 2013.
- FOSSUM, T. W. **Cirurgia em pequenos animais**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.
- KWAKMAN, P. H. et al. How honey kills bacteria. **FASEB J.**, [Bethesda, Md.], v. 24, n. 7, p. 2576-2582, Jul. 2010.
- LUSBY, P. E.; COOMBS, A.; WILKINSON, J. M. Honey: a potent agent for wound healing? **J. Wound, Ostomy, Continence Nurs.**, St. Louis, MO, v. 29, n. 6, p. 295-300, Nov. 2002.
- MATHEWS, K. A.; BINNINGTON, A. G. Wound management using honey. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.**, v. 24, n. 1, p. 53-60, 2002.
- ROOSTER, H.; DECLERCQ, J. Honey for wound care: myth or science? Part 2: clinical cases with dogs. **Flemish Veterinary J.**, v. 78, p. 75-80, 2008.
- SAHIN, I. et al. Cost analysis of acute burn patients in a burn centre: the gulhane experience. **Ann. Burns Fire Disasters**, Palermo, IT, v. 24, n. 1, p. 9-13, Mar. 2011.
- SUBRAHMANYAM, M. Honey dressing versus boiled potato peel in the treatment of burns. **Burns**, [Guildford, Surrey, UK], v. 22, n. 6, p. 491-493, Sept. 1996.
- SUBRAHMANYAM, M. Topical application of honey for burn wound treatment – an overview. **Ann. Burns Fire Disasters**, Palermo, IT, v. 20, n. 3, p. 137-139, Sept. 2007.
- SUBRAHMANYAM, M. Topical application of honey in treatment of burns. **Br. J. Surg.**, Bristol, England, v. 78, n. 4, p. 497-498, Apr. 1991.
- VANDAMME, L. et al. Honey in modern wound care: a systematic review. **Burns**, [Guildford, Surrey, UK], v. 39, n. 8, p. 1514-1525, Dec. 2013.
- XIE, H.; PREAST, V. **Xie's Chinese veterinary herbology**. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.

Diagnóstico de cinomose canina por RT-PCR em amostras de cães do estado de São Paulo enviadas para o diagnóstico laboratorial da raiva

Carla Isabel Macedo¹,
Zélia Maria Pinheiro Peixoto¹
Juliana Galera Castilho¹
Rafael de Novaes Oliveira¹
Adriana Cândido Rodrigues²
Samira Maria Achkar¹

Canine distemper diagnosis by RT-PCR in dog samples from São Paulo State submitted to rabies laboratory diagnosis

Resumo

A cinomose canina (CD) é uma das doenças infecciosas mais importantes dos cães domésticos. No Brasil é ainda a principal causa de mortalidade de cães em algumas populações urbanas. Embora sequências de diferentes genes do vírus sejam utilizadas como alvo para detecção do vírus da cinomose canina (CDV), o gene N parece ser o melhor para a amplificação de todas as suas linhagens. Utilizando-se a técnica de RT-PCR direcionada ao gene N do CDV, foram analisadas 190 amostras de sistema nervoso central (SNC) de cães do estado de São Paulo com quadros sugestivos de encefalite e que foram encaminhadas ao Instituto Pasteur para o diagnóstico da raiva, durante o ano de 2014. A positividade foi superior a 50% indicando que a cinomose continua a ser uma importante causa de mortalidade canina.

Summary

Canine distemper (CD) is one of the most important infectious diseases in domestic dogs. In Brazil, CD is still the principal cause of mortality of dogs in some urban populations. Although different viral gene sequences have been identified for detecting the canine distemper virus (CDV), the N gene appears to be a better target for the amplification of specific fragments from all CDV strains. Using RT-PCR targeted to the CDV N gene, during the year 2014 we analyzed 190 central nervous system (CNS) samples of dogs from the state of São Paulo, Brazil, with symptoms suggestive of encephalitis and sent them to the Pasteur Institute for the diagnosis of rabies. Positivity for CD was over 50%, indicating that the disease remains an important cause of canine mortality.



Palavras-chave

Cinomose canina. RT-PCR.
Encefalite. Diagnóstico.

Keywords

Canine Distemper. RT-PCR.
Encephalitis. Diagnosis.

A cinomose canina (CD- do inglês *canine distemper*) é uma doença viral multissistêmica altamente contagiosa, de distribuição mundial, que afeta diversas espécies de mamíferos pertencentes às famílias *Canidae*, *Mustelidae*, *Procyonidae*, *Felidae* e *Viverridae* (ARNS et al., 2012). Entretanto, os cães são os principais reservatórios, particularmente os cães jovens, resultando em elevada mortalidade (APPEL, 1987; BRASIL, 2008). O agente etiológico é um vírus RNA, envelopado classificado na ordem *Mononegavirales*, família *Paramyxoviridae*, gênero *Morbillivirus* (KING et al., 2011).

O principal diagnóstico é baseado nas manifestações clínicas dos cães. No entanto, a apresentação clínica variável pode dificultar o diagnóstico da doença principalmente nos casos de manifestação neurológica focal, quando outros sintomas sistêmicos, prévios ou concomitantes estão ausentes (GALANTE, 2009; LATHA et al., 2007; SHIN et al., 2004). Embora o número de casos de CD no mundo tenha sido significativamente reduzido com a introdução, nos anos, das vacinas atenuadas e subsequente uso extensivo, no Brasil a enfermidade ainda é endêmica em diversas áreas urbanas do país (BIAZZONO; HAGIWARA; CORRÊA, 2001; HEADLEY et al., 2012).

A cinomose não é uma zoonose, entretanto, durante os últimos 15 anos, o Instituto Pasteur (IPA), Laboratório de Referência para a Raiva no estado de São Paulo, tem realizado o diagnóstico diferencial da CD em amostras de sistema nervoso central (SNC) provenientes de cães com sintomatologia compatível com encefalite, por meio do diagnóstico histopatológico, utilizando-se o Método de Sellers (SELLERS; FELLOW, 1927).

Recebido em 22 de julho de 2015 e aprovado em 8 de setembro de 2015

¹ Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Esta metodologia foi utilizada até o ano de 2013, como forma de triagem das amostras encaminhadas para o diagnóstico da Raiva, permitindo a visualização dos Corpúsculo de Negri e Corpúsculos de Lentz, nos casos de raiva ou cinomose, respectivamente. Embora essa técnica permita a diferenciação dos dois vírus, devido à sua baixa sensibilidade, um resultado negativo não exclui a possibilidade de infecção (ARNS et al., 2012).

Atualmente, a técnica de RT-PCR para o diagnóstico da CD tem sido amplamente utilizada (ARNS et al., 2012) tem sido incorporada à rotina laboratorial do IPA em 2014. O objetivo deste trabalho foi relatar os resultados obtidos com esta nova tecnologia.

Material e Métodos

Amostras

No período de janeiro a dezembro de 2014, foram analisadas 190 amostras de SNC de cães que apresentaram quadro indicativo de encefalite, provenientes de diferentes municípios do estado de São Paulo (Tabela 1).

RT-PCR

O RNA foi extraído de 0,6g das amostras de SNC utilizando-se Trizol® (Invitrogen) de acordo com as instruções do fabricante. Como controles positivos foram utilizados o antígeno da Vacina Lederle® e amostras de campo, previamente sequenciadas (CASTILHO et al., 2007) e, como controles negativos, amostras SNC de camundongos não infectados e água ultrapura foram incluídas em todos os ensaios. As reações de RT e PCR foram realizadas conforme descrito por Castilho et al. (2007), utilizado-se os oligonucleotídeos CDV e CDVS direcionados à região 5' do gene N descritos por Castilho et al. (2007).

Resultados e discussão

Das 190 amostras analisadas, 104 foram positivas para o vírus da cinomose pela técnica de RT-PCR, tendo-se observado a amplificação do fragmento de DNA de 480pb, em eletroforese em gel de agarose (Figura 1, Tabela 1).

As técnicas de PCR e Nested RT-PCR tem sido utilizadas para o diagnóstico antemortem e postmortem da cinomose. Embora diferentes genes tenham sido utilizados para o diagnóstico e caracterização das sequências obtidas, o gene N, altamente conservado, parece ser o melhor alvo para a amplificação de todas as espécies de CDV (ALCALDE et al., 2013; CALDERON et al., 2007; CASTILHO et al., 2007; DI FRANCESCO et

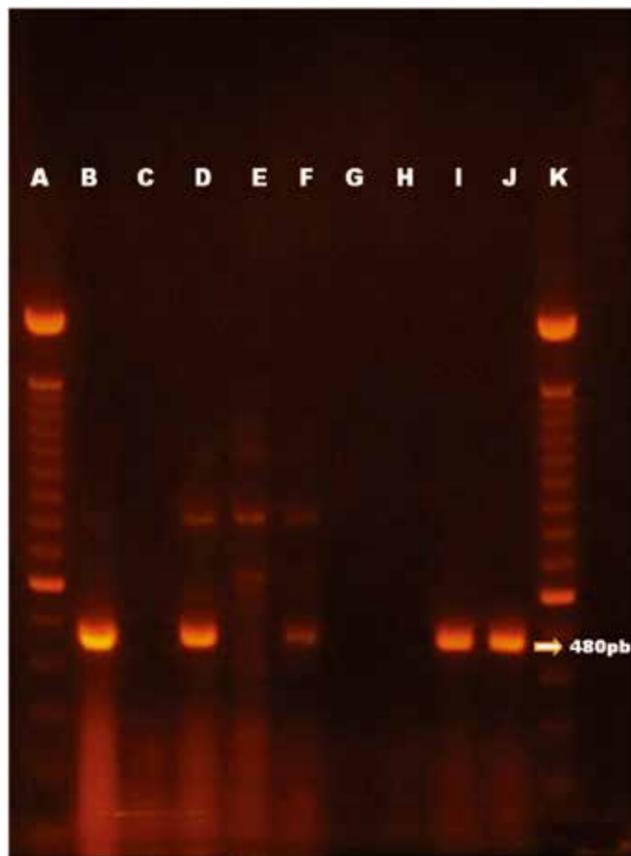


Figura 1 – Eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo. Amplificação de DNA, por PCR, de fragmento de DNA do gene N do vírus da cinomose canina. Marcador de peso molecular em escada de 100pb ladder (A e K), amostras positivas (B, D e F), amostras negativas (C e E), controles negativos (G e H) e controles positivos (I e J) Fonte: Arquivo do Instituto Pasteur, São Paulo – SP.

al., 2012; GÁMIZ et al., 2011; KIM et al., 2006; YI et al., 2013; WANG et al., 2011) porque outros genes, menos conservados, podem possuir alterações que impeçam a ligação dos primers gerando resultados falso negativos. Esse fato faz com que muitos autores que trabalham com outros genes para melhor identificar diferentes linhagens circulantes utilizem primeiro o gene N para triagem das amostras (DI FRANCESCO et al., 2012; GÁMIZ et al., 2011; NEGRÃO et al., 2013).

Utilizando-se a técnica de RT-PCR direcionada ao gene N, este estudo demonstrou que o vírus da cinomose estava presente e pode ter sido responsável pela morte de 54,7% dos cães com quadros sugestivos de encefalite e que foram encaminhados ao Instituto Pasteur para o diagnóstico diferencial com a raiva.

Embora o objetivo desse estudo não tenha sido a realização de uma análise epidemiológica da cinomose no estado de São Paulo, podemos notar que a enfermidade é enzoótica no estado.

Conclusão

Os resultados obtidos sugerem que a cinomose continua a ser uma importante causa de mortalidade canina no estado de São Paulo. A cinomose canina deve ser incluída no diagnóstico diferencial de enfermidades que causam sintomatologia neurológica, sendo os testes laboratoriais essenciais para confirmar a infecção. 📌

Referências

- ALCALDE, R. et al. Canine distemper virus: detection of viral RNA by nested RT-PCR in dogs with clinical diagnosis. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo, v. 50, n. 1, p. 74-76, 2013.
- APPEL, M. J. G. Canine distemper virus. In: APPEL, M. J. G. (Ed.). *Virus infections of carnívora*. Amsterdam: Elsevier Science, 1987. p. 133-159.
- ARNS, C. W. et al. Paramyxoviridae. In: FLORES, E. F. (Org.). *Virologia veterinária: virologia geral e doenças víricas*. 2. ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2012. p. 759-793.
- BIAZZONO, L.; HAGIWARA, M. K.; CORRÊA, A. R. Avaliação da resposta imune humoral em cães jovens imunizados contra a cinomose com vacina de vírus atenuado. *Bra. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo, v. 38, n. 5, p. 245-250, jan. 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Manual de diagnóstico laboratorial da raiva*. Brasília, DF, 2008.
- CALDERON, M. G. et al. Detection by RT-PCR and genetic characterization of canine distemper virus from vaccinated and non-vaccinated dogs in Argentina. *Vet. Microbiol.*, Amsterdam, v. 15, n. 125, p. 341-349, Dec. 2007.
- CASTILHO, J. G. et al. Molecular analysis of the N gene of canine distemper virus in dogs in Brazil. *Arquivo Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte, v. 59, n. 3, p. 654-659, jun. 2007.
- DI FRANCESCO, C. E. et al. Detection by hemi-nested reverse transcription polymerase chain reaction and genetic characterization of wild type strains of Canine distemper virus in suspected infected dogs. *J. Vet. Diagn. Invest.*, Thousand Oaks, CA, v. 24, n. 1, p. 107-115, jan. 2012.
- GALANTE, A. C. *Imunocromatografia, observações clínica, hematológica e bioquímica sérica de cães (Canis familiaris) com suspeita de cinomose*. 2009. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2009.
- GAMIZ, C. et al. Identification of a new genotype of canine distemper virus circulating in America. *Vet. Res. Commun.*, [Amsterdam], v. 35, n. 6, p. 381-390, Aug. 2011.
- HEADLEY, S. A. et al. Epidemiological features and the neuropathological manifestations of canine distemper virus-induced infection in Brazil: a review. *Semina: ciênc. agrárias*, Londrina, v. 33, n. 5, 1945-1978, set./out. 2012.
- KIM, D. et al. Comparison of tissue and fluid samples for early detection of canine distemper virus in experimentally infected dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, Tokyo, v. 68, n. 8, p. 877-879, Aug. 2006.
- KING, A. M. Q. et al. (Ed.). *Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. New York: Academic Press, 2011.

LATHA, D. et al. Development of recombinant nucleocapsid protein based IgM-ELISA for the early detection of distemper infection in dogs. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, [Amsterdam], v. 119, n. 15, p. 278-286, Oct. 2007.

NEGRÃO, F. J. et al. Phylogenetic analyses of the hemagglutinin gene of wild-type strains of canine distemper virus in southern Brazil. *Genet. Mol. Res.*, Ribeirão Preto, v. 12, n. 3, p. 2549-2555, July 2013.

SELLERS, T. F.; FELLOW, A. P. H. A. A new method for staining Negri Bodies of Rabies. *Am. J. Public Health*, v. 17, n. 10, p. 1080-1081, 1927.

SHIN, Y. J. et al. Comparison of one-step RT-PCR and nested PCR for the detection of canine distemper virus in clinical samples. *Aust. Vet. J.*, New South Wales, v. 82, n. 1-2, p. 83-86, Feb. 2004.

YI, L. et al. Complete nucleotide sequence of canine distemper virus CDV-PS, isolated from dogs in China. *Genome Announc.*, Washington, DC, v. 1, n. 3, e00232-13, May 2013.

WANG, F. et al. Differentiation of canine distemper virus isolates in fur animals from various vaccine strains by reverse transcription-polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism according to phylogenetic relations in China. *Virology*, [London], v. 8, p. 85, Feb. 2011.

Inquérito sorológico para paramixovírus ofídico em serpentes cativas

Serologic survey for ophidian paramyxovirus in captive snakes

Resumo

O manejo de serpentes em cativeiro é um desafio permanente para os criadores, principalmente no que tange ao controle de doenças. Parasitoses, problemas gastrointestinais e viroses respiratórias têm sido as principais enfermidades registradas em serpentários e coleções particulares. A maior preocupação é a paramixovirose ofídica, causada pelo Ophidian paramyxovirus (OPMV), que acomete primariamente o sistema respiratório podendo envolver também o nervoso, sendo muitas vezes fatal e que já foi descrita em colubrídeos, elapídeos, viperídeos, boídeos e pitonídeos. O OPMV é transmitido por aerossóis e pelo contato direto com secreções respiratórias, fômites, ectoparasitas tais como os carrapatos e as excretas digestivas. Não há tratamento específico nem vacinas disponíveis para esta virose. Os procedimentos laboratoriais utilizados para o diagnóstico da infecção incluem: isolamento viral em cultivo celular; microscopia eletrônica; imunistoquímica; reação em cadeia da polimerase (PCR); ou pode-se ainda trabalhar com a quantificação de anticorpos pelo teste de inibição de hemaglutinação (HI) e pelo teste de ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) com bloqueio na fase líquida. O presente estudo empregou a técnica de ELISA com bloqueio de fase líquida para investigar a presença de anticorpos anti-OPMV em 42 serpentes, das quais 36 peçonhentas e seis não peçonhentas alojadas no Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos da UNESP - CEVAP. O sangue foi cole-

tado da veia caudal ventral e o soro foi enviado ao Laboratório de Virologia do Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP. A prevalência de soropositivos foi de 9,5% (quatro animais), todos pertencentes à espécie *Crotalus durissus terrificus*. Destes, três apresentavam os maiores títulos de anticorpos (forte positivo) e estavam alojados no serpentário semiextensivo e um, com o menor título (fraco positivo), no intensivo. É sabido que no ambiente semiextensivo, onde os animais estão em contato direto e com a mesma fonte de água, a possibilidade de contágio aumenta. O resultado dos animais fortemente positivos sugere a existência de contato recente com o vírus, porém, sem que os animais expressem sinais de doença. A serpente considerada fraca positiva, alojada no cativeiro intensivo, foi sobrevivente de um surto ocorrido há 12 anos no CEVAP, o que demonstra que os anticorpos podem persistir por anos. Ainda não se sabe se os anticorpos são protetores ou apenas sinalizadores do contágio e se estes animais podem ser considerados como reservatórios da doença. A paramixovirose ofídica é uma doença silenciosa, altamente contagiosa e com muitos casos de morte súbita. Por fim, estudos do tipo caso-controle deverão ser conduzidos para se saber se a presença destes anticorpos indica resistência viral ou reservatório. Neste último caso, a adequada profilaxia da doença incluirá o isolamento dos animais sorologicamente positivos.

Summary

The captivity maintenance of snakes is a challenge for the breeders, especially in diseases control. The most common diseases in serpentarium and private collections are the parasites, gastrointestinal problems and respiratory viruses. The biggest concern is the ophidian paramyxovirus caused by ophidian paramyxovirus (OPMV), which primarily affects the respiratory system and may also involve the nervous system. Often fatal, it was described in Colubridae, Elapidae, Viperidae, Boidae and Pitonidae. This virus is transmitted by aerosols, respiratory secretions, contaminated utensils, ectoparasites such as ticks and digestive excreta. There is no specific treatment or vaccine available. The diagnostic methods are: virus isolation in cell culture; electron microscopy; immunohistochemical; polymerase chain reaction (PCR); hemagglutination-inhibition (HI) and liquid-phase blocking ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). This study aimed to make a serological survey, by liquid-phase blocking ELISA, searching to the presence of the anti-OPMV antibodies in 42 snakes (36 poisonous and six, not poisonous) maintained in the Center for the Study of Venoms and Venomous Animals (CEVAP) - UNESP. The serum was collected from caudal ventral vein and sent to the Virology Laboratory

of the Biosciences Institute of Botucatu - UNESP for evaluation of antibodies titers. The prevalence of seropositives was 9.5% (four animals), all of them *Crotalus durissus terrificus*. Three of these had the highest antibody titers (strong positive) and were maintained in semi-extensive captivity and one with the lowest title (weak positive) was in intensive captive. It is known that in semi-extensive captivity, where the animals are in direct contact with the same source of water, there is higher possibility of infection. The result of the strongly positive animals suggests the possibility of recent virus, but not necessarily expressing signs of illness. The weak positive, kept in intensive captivity, was a survivor of an outbreak 12 years ago in CEVAP, which shows that reptiles remained producing antibodies for years. It is not yet clear if these antibodies are protective or just flags of contagion or if these animals are reservoirs of the disease. The ophidian paramyxovirus is a silent disease, highly contagious and with many cases of sudden death. Finally, case-control studies should be conducted for the elucidation if these antibodies indicate viral resistance or reservoir conditions. In the last case, the isolation of seropositive animals will be imperative for adequate prophylaxis of the disease.



Palavras-chave

Serpentes. Paramixovirose ofídica. Infecção. ELISA. Profilaxia.

Keywords

Snakes. Ophidian paramyxovirus. Infection. ELISA. Prophylaxis.

O manejo de serpentes em cativeiro é um desafio permanente para os criadores e a eficiência desta criação está diretamente ligada à sobrevivência dos animais (COSTA, 2005). Na atualidade, existem duas principais formas de criação de serpentes: cativeiros intensivos, onde o animal está alojado individualmente, e os semiextensivos onde se alojam grupos em condições similares as existentes na vida livre (MELGAREJO, 2002).

As parasitoses (endo, ecto e hemo) (MADER, 2006), os problemas gastrointestinais (FUNK, 2002) e as viroses respiratórias (JACOBSON, 2014) são as principais enfermidades que tem sido registradas em serpentários e coleções particulares. Dentre elas, a de maior preocupação é a paramixovirose ofídica, causada pelo Ophidian paramyxovirus (OPMV), que apresenta elevada letalidade (JACOBSON, 2014). O OPMV, um vírus envelopado do tipo RNA, acomete primariamente o sistema respiratório dos animais, mas também pode atingir o sistema nervoso. A paramixovirose ofídica já foi descrita em colubrídeos, elapídeos, viperídeos, boídeos e pitonídeos (HYNDMAN; SHILTON; MARSCHANG, 2013). O vírus é facilmente transmitido pelo contato direto, pelas secreções respiratórias, pelos fômites e até por ectoparasitas como os carrapatos (PASMANS

et al., 2008). As excretas do trato digestivo também contribuem para a transmissão da virose, especialmente quando as serpentes defecam diretamente no bebedouro de água. Neste caso, o vírus pode continuar viável por longos períodos de tempo (JACOBSON, 2014).

Os sinais clínicos da doença são variáveis, o que dificulta o diagnóstico. Os mais frequentes são: presença de secreção hemorrágica nas narinas e traqueia, dificuldade e estridor respiratório, opistótono, paralisia flácida, tremores de cabeça, alterações de propriocepção, postura corporal anormal, anorexia/regurgitação, diarreia mucoide com odor fétido, letargia e até morte súbita. Na necropsia são observadas alterações principalmente no trato respiratório (JACOBSON et al., 1997; KOLESNIKOVAS et al., 2006; NOGUEIRA et al., 2002; PAPP et al., 2010a; PAPP; SEYBOLD; MARSCHANG, 2010b).

Não há tratamento específico nem vacinas disponíveis no mercado para a profilaxia da paramixovirose ofídica (CRANFIELD; GRACZYK, 1996; JACOBSON et al., 1991; LLOYD; FLANAGAN, 1991). Os antibióticos de amplo espectro têm sido empregados para aumentar a sobrevivência dos animais controlando infecções secundárias causadas por bactérias ou protozoários (BRONSON; CRANFIELD, 2006; KOLESNIKOVAS et al., 2006).

Desde a sua primeira descrição em 1972 (FÖLSCH; LELOUP, 1976), o OPMV tornou-se uma preocupação constante para os criadores de serpentes da família *Viperidae*. Já foram descritos casos de serpentes infectadas pelo OPMV nos EUA, Alemanha, México, Argentina (JACOBSON, 2014) e no Brasil (AZEVEDO et al., 2001; KEEBLE, 2004; KOLESNIKOVAS et al., 2006; NOGUEIRA et al., 2002). Na cidade de Botucatu, estado de São Paulo, Brasil, há indícios da existência de uma endemia de infecção de serpentes pelo OPMV, pois no ano de 2002 foram isoladas amostras deste vírus em um surto no Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP) com uma taxa de mortalidade de mais de 50% (NOGUEIRA et al., 2002). Funcionários do Centro afirmam (comunicação pessoal) que em 2007 houve um segundo surto em menor proporção, com alguns casos pontuais, onde os animais com sintomatologia respiratória foram eutanasiados. No Brasil, apenas o estado de São Paulo possui relatos da presença deste vírus (AZEVEDO et al., 2001; KOLESNIKOVAS, 2003; KOLESNIKOVAS et al., 2006; NOGUEIRA et al., 2002).

O período de incubação das serpentes naturalmente infectadas pelo OPMV é incerto, mas situa-se entre 21 a 90 dias (HERNANDEZ-DIVERS, 2006; RITCHE, 2006). Como todos os paramyxovirus, o problema principal do OPMV é a fase aguda da doença em que ocorre a

maioria dos óbitos. Os animais que sobrevivem a fase aguda podem exibir sequelas, apresentam altos títulos de anticorpos e, eventualmente, podem vir a óbito. O sistema imunológico dos répteis, quando estimulado, trabalha com a imunidade adquirida em longo prazo, aumentando a produção de anticorpos por mais de um ano, visto que estes animais possuem metabolismo basal lento (SANDMEIER et al., 2012). Sabe-se ainda que o OPMV (*Paramyxoviridae*) está relacionado geneticamente às famílias *Filoviridae* (vírus do Ebola), *Rhabdoviridae* (vírus da raiva). As serpentes infectadas pelo OPMV podem se tornar sorologicamente positivas sem que se tenha comprovado a presença do vírus pelo teste do PCR (LEROY et al., 2005; YUAN et al., 2012).

Os métodos laboratoriais aplicados ao diagnóstico da paramixovirose ofídica são: o isolamento viral em cultivo celular (MARSCHANG; CHITTY, 2004); microscopia eletrônica (JACOBSON, 2007); imunistoquímica (HOMER et al., 1995); PCR (SAND et al., 2004). A quantificação de anticorpos pode ser obtida com a inibição de hemaglutinação (HI) (ALLENDER et al., 2008; QUINN et al., 2002) e o ELISA de bloqueio em fase líquida (ARAÚJO JUNIOR, 1996). O kit diagnóstico comercial mais utilizado se baseia na técnica de inibição de hemaglutinação, porém o seu resultado não é confiável para todas as espécies de serpentes (ALLENDER et al., 2008).

A prevenção da paramixovirose ofídica é realizada pela quarentena dos animais recém-chegados, com período de tempo variando entre 30 dias e seis meses (BRONSON; CRANFIELD, 2006; JACOBSON et al., 1997; KEEBLE, 2004; RITCHE, 2006).

Os inquéritos sorológicos apresentam baixo custo e permitem o exame de um grande número de animais. A vigilância da presença da infecção causada por OPMV em um plantel de ofídeos, utilizando o monitoramento sorológico, permite a realização de programas de controle e prevenção dessa importante enfermidade.

O presente trabalho realizou um inquérito sorológico com o emprego da técnica de ELISA de bloqueio em fase líquida para avaliar a ocorrência de paramixovirose ofídica nos diversos setores do Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP) da UNESP, campus de Botucatu, SP.

Material e métodos

Foram examinadas 42 serpentes peçonhentas (n=36) e não peçonhentas (n=6), de nove espécies, alojadas de forma aleatória em quatro ambientes do CEVAP, a saber: quarentenários, museu de visitação, serpentário de manejo intensivo e serpentário de manejo semiextensivo.

O sangue foi coletado por meio do acesso à veia caudal ventral de um indivíduo *Bothrops moojeni*, seis *Bothrops alternatus*, dois *Bothrops jararacussu*, 27 *Crotalus durissus terrificus*, dois *Python molurus bivittatus*, um *Boa constrictor amarali*, um *Eunectes murinus*, um *Eunectes notaeus* e um *Hydrodynastes gigas*. Os soros foram enviados ao Laboratório de Virologia do Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP, para pesquisa de anticorpos anti-OPMV. Todos os animais eram adultos e pesavam no mínimo 1 kg de peso corpóreo, apresentavam-se hígidos ao exame clínico e não apresentavam sinais clínicos de paramixovirose.

O fluxograma dos animais recém-chegados ao CEVAP inicia-se por uma quarentena de 60 dias. Neste período foram avaliados a biometria, dados de identificação e o estado de saúde geral dos animais. Ao final, os animais peçonhentos da espécie *Crotalus durissus terrificus* foram direcionados para o cativeiro semiextensivo, em baias coletivas. As demais espécies foram direcionadas ao cativeiro intensivo onde ficam alojadas individualmente em caixas de polipropileno. As serpentes não peçonhentas foram destinadas às baias individuais no museu de visitação.

A pesquisa de anticorpos anti-OPMV por ELISA foi realizada no Laboratório de Virologia do Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP. Os antígenos utilizados foram produzidos no Laboratório a partir de um surto de paramixovirose ocorrido no CEVAP em 2002. A padronização da técnica de ELISA foi baseada nos trabalhos prévios de Araújo Junior (1996) e Nogueira et al. (2002). Os resultados da titulação foram apresentados como porcentagem de inibição em relação à amostra controle onde não foram adicionados os soros testes. Animais com porcentagens de inibição maiores que 80% foram considerados como positivos fortes; de 80 a 40% como positivos fracos; e menores que 40% como negativos.

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, em 27/09/2012, com número de protocolo CEEA 966/2012.

Resultados

Os resultados obtidos são apresentados na tabela 1. Quatro serpentes (9,5%), todas pertencentes à espécie *Crotalus durissus terrificus*, apresentaram resultados positivos para OPMV. Destas, três positivos fortes pertenciam ao serpentário semiextensivo e uma, positiva fraca, estava alojada no cativeiro intensivo. Esta última serpente, de acordo com o Banco de dados do CEVAP, é uma das mais antigas do plantel e sobrevivente a um surto de paramixovirose ocorrido em 2002 no CEVAP. Dois animais do cativeiro

semiextensivo, positivos fortes, foram a óbito subitamente com sinais clínicos de doença respiratória, com secreção na traqueia, opistótono e incoordenação motora e proprioceptiva. Não houve a possibilidade de coleta de amostra ou exame necroscópico pelo avançado estágio de putrefação que as carcaças apresentavam. Os demais animais apresentavam-se aparentemente saudáveis.

Discussão

Sabe-se que o OPMV é facilmente transmitido por aerossóis e pelo contato direto com secreções respiratórias, fômites, ectoparasitas como carrapatos, excretas do trato digestivo e por água contaminada (JACOBSON, 2014; PASMANS et al., 2008). No cativeiro semiextensivo onde os animais estavam em contato direto uns com os outros e com a mesma fonte de água, a possibilidade de contágio é maior. Estas observações corroboram os resultados deste estudo, onde três dos quatro animais sorologicamente positivos estavam alojados neste ambiente. As elevadas porcentagens de inibição de anticorpos no teste de ELISA dos animais soropositivos sugerem que os mesmos tinham tido recente contato com o vírus, sem terem expressado os sinais clínicos da doença, assim como ocorreu com o animal sobrevivente do cativeiro semiextensivo. O animal fraco positivo do cativeiro intensivo era sobrevivente de um surto ocorrido em 2002 no CEVAP, e, portanto, os anticorpos nele detectados podem ter sido remanescentes desta infecção o que é admitido por Sandmeier et al. (2012) que refere a permanência de anticorpos durante muitos anos, no entanto, não pode ser excluída a hipótese de ter ocorrido um novo contato com o vírus.

O cativeiro semiextensivo, apesar de se aproximar das condições existentes na natureza, possui desvantagens para o controle de enfermidades infectocontagiosas, pois os animais mantidos neste ambiente raramente apresentam sinais de doença em seu estágio inicial. No cativeiro intensivo há um maior controle da saúde das serpentes pela presença das barreiras físicas das caixas individualizadas o que reduz ou mesmo evita a transmissão dos patógenos (MELGAREJO, 2002).

A prevenção ainda é a única forma de se efetuar o controle da paramixovirose ofídica, pois não existe um tratamento específico para a enfermidade. A literatura cita períodos de quarentena longos, que vão de 30 dias até seis meses, o que encarece sobremaneira os criatórios (BRONSON; CRANFIELD, 2006; HYNDMAN; SHILTON; MARSCHANG, 2013; JACOBSON et al., 1997; KEEBLE, 2004; RITCHE, 2006) devido ao período de incubação também variável (HERNADEZ-DIVERS, 2006; RITCHE, 2006). Outra possibilidade seria a inclusão de testes sorológicos para pesquisa de OPMV, tais

como o de ELISA (ARAÚJO JUNIOR, 1996), na rotina de manejo das serpentes em cativeiro. Neste caso, o isolamento destes animais em ambientes especiais seria uma alternativa de manutenção de espécies em extinção.

Não se sabe se as serpentes são reservatórios da doença como acontece nos animais reservatórios do vírus da raiva e do ebola (LEROY et al., 2005; YUAN et al., 2012). A paramixovirose é uma doença silenciosa, altamente contagiosa e com muitos casos de morte súbita (JACOBSON, 2014). As enfermidades causadas por vírus do tipo paramyxovirus são em sua grande maioria agudas e de curso rápido. Talvez por possuírem metabolismo

basal baixo, os répteis de uma maneira geral respondam de forma distinta dos mamíferos (SANDMEIER et al., 2012). Estudos do tipo caso-controle deverão ser conduzidos para se saber até onde a presença de anticorpos anti OPMV indicam condições de resistência viral ou de reservatório natural. Neste último caso, o isolamento dos animais sorologicamente positivos será imperativo para a adequada profilaxia da doença. 

Tabela 1 – Serpentes alojadas no Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP) da UNESP, campus de Botucatu, SP, submetidas ao teste ELISA com bloqueio de fase líquida para pesquisa de anticorpos anti paramixovirus ofídico segundo o setor de alojamento, a espécie de serpente e a natureza do resultado obtido expresso em densidade óptica (D.O.)

LOCAL	SERPENTE	PRESENÇA DE ANTICORPOS anti-OPMV
Serpentário Intensivo	<i>C. durissus terrificus</i> (n=6)	
	<i>B. alternatus</i> (n=5)	Título positivo fraco em 1 <i>C. durissus terrificus</i> (D.O = 47%)
	<i>B. jararacussu</i> (n=1)	
Serpentário Semiextensivo	<i>C. durissus terrificus</i> (n=15)	Títulos fortemente positivos em 3 <i>C. durissus terrificus</i> (D.O. = 10%, 10% e 6%)
Quarentenários	<i>C. durissus terrificus</i> (n=4)	
	<i>B. moojeni</i> (n=1)	Títulos negativos (D.O > 60%)
Museu de visitação	<i>C. durissus terrificus</i> (n=2)	
	<i>P. molurus bivittatus</i> (n=2)	
	<i>B. constrictor amarali</i> (n=1)	
	<i>E. notaeus</i> (n=1)	Títulos negativos (D.O > 60%)
	<i>E. murinus</i> (n=1)	
	<i>B. alternatus</i> (n=1)	
	<i>B. jararacussu</i> (n=1)	

D.O <20% positivo forte; 20-60% positivo fraco; >60% negativo para anticorpos contra OPMV. Fonte: Autoria própria.

Referências

ALLENDER, M. C. et al. Measuring agreement and discord among hemagglutination inhibition assays against different ophidian paramyxovirus strains in Eastern massasauga (*Sistrurus catenus catenus*). **J. Zoo Wildl. Med.**, Yulee, v. 39, n. 3, p. 358-361, Sept. 2008.

ARAÚJO JUNIOR, J. P. **ELISA de bloqueio em fase líquida com diluição única para quantificação de anticorpos contra o paramyxovirus ofídico em soros de serpentes**. 1996. 28 f. Tese (Livro Docência) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1996.

AZEVEDO, I. L. J. et al. Characterization of a paramyxovirus from Fer de Lance viper: partial nucleotide sequence of putative fusion protein. **Arch. Virol.**, Wien, v. 146, n. 1, p. 51-57, 2001.

BRONSON, E.; CRANFIELD, M. R. Paramyxovirus. In: MADER, D. R. (Ed.). **Reptile medicine and surgery**. St. Louis: Elsevier, 2006. p. 858-861.

COSTA, A. C. O. R. et al. Manutenção de serpentes em cativeiro no Instituto Butantan: I- a longevidade dos gêneros *Bothrops*, *Crotalus* e *Lachesis*. **Publs. Av. Inst. Pau Brasil**, n. 8-9, p. 63-8, dez. 2005.

CRANFIELD, M. R.; GRACZYK, T. K. Ophidian Paramyxovirus. In: MADER, D. (Ed.). **Reptile medicine and surgery**. Philadelphia: WB Saunders, 1996. cap. 63, p. 858-861.

FÖLSCH, D. W.; LELOUP, P. Fatal endemic infection in a serpentarium. Diagnosis, treatment and preventive measures. **Tierarztl. Prax.**, Stuttgart, v. 4, n. 4, p. 527-536, 1976.

FUNK, R. S. Lizard reproductive medicine and surgery. **Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.**, Philadelphia, v. 5, n. 3, p. 579-613, Sept. 2002.

HERNANDEZ-DIVERS, S. J. Appendix A - reptile viral diseases – summary table. In: MADER, D. R. (Ed.). **Reptile medicine and surgery**. St. Louis: Elsevier, 2006. p. 1147-1158.

HOMER, B.L. et al. Immunoperoxidase detection of ophidian paramyxovirus in snake lung using a polyclonal antibody. **J. Vet. Diagn. Invest.**, Columbia, MO, v. 7, n. 1, p. 72-77, Jan. 1995.

HYNDMAN, T. H.; SHILTON, C. M.; MARSCHANG, R. E. Paramyxoviruses in reptiles: a review. **Vet. Microbiol.**, Amsterdam, v. 165, n. 3-4, p. 200-213, Aug. 2013.

JACOBSON, E. R. **Ophidian Paramyxovirus (OPMV)**. [Florida: University Florida], 2014. Disponível em: <http://labs.vetmed.ufl.edu/sample-requirements/microbiology-parasitology-serology/zoo-med-infections/opmv/>. Acesso em: 16 fev. 2015.

JACOBSON, E. R. Viruses and viral diseases of reptiles. In: JACOBSON, E. R. **Infectious diseases and pathology of reptiles: color atlas and text**. Florida: Taylor & Francis, 2007. p. 395-460.

JACOBSON, E. R. et al. Antibody responses of Western Diamondback rattlesnakes (*Crotalus atrox*) to inactivated ophidian paramyxovirus vaccines. **J. Zoo Wildl. Med.**, Yulee, v. 22, n. 2, p. 184-190, June 1991.

JACOBSON, E. R. et al. Pulmonary lesions in experimental ophidian paramyxovirus pneumonia of Aruba Island Rattlesnakes, *Crotalus unicolor*. **Vet. Pathol.**, Basel, v. 34, n. 5, p. 450-459, Sept. 1997.

KEEBLE, E. Neurology. In: GIRLING, S.; RAITI, P. **BSAVA manual of reptiles**. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2004. p. 273-288.

KOLESNIKOVAS, C. K. M. **Infeção experimental por Paramyxovirus em serpentes Boa constrictor (LINNAEUS, 1758)**. Estudo anátomo-patológico, imunoistoquímico, microbiológico, hematológico e sorológico. 2003. 115 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2003. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10133/tde-21062007-140639/>. Acesso em: 5 jan. 2015.

KOLESNIKOVAS, C. K. et al. Ophidian paramyxovirus in Brazilian vipers (*Bothrops alternatus*). **Vet. Rec.**, London, v. 159, n. 12, p. 390-392, Sept. 2006.

LEROY, E. M. et al. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. **Nature**, London, v. 438, n. 7068, p. 575-576, Dec. 2005.

LLOYD, M. L.; FLANAGAN, J. Recent developments in ophidian paramyxovirus research and recommendations on control. In: PROCEEDINGS of the American Association of Zoo Veterinarians. 1991. Philadelphia: American Association of Zoo Veterinarians, 1991. p. 148-153.

MADER, D. R. Parasitology. In: MADER, D. R. (Ed.). **Reptile medicine and surgery**. St. Louis: Elsevier, 2006. p. 343-364.

MARSCHANG, R. E.; CHITTY, J. Infectious diseases. In: BSAVA manual os reptiles. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2004. p. 330-345.

MELGAREJO, A. R. Criação e manejo de serpentes. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. (Org.). **Animais de laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. p. 175-199.

NOGUEIRA, M. F. et al. Isolation of an Ophidian Paramyxovirus (OPMV) in a captive rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) from Botucatu, São Paulo State, Brazil. **J. Venom. Anim. Toxins**, Botucatu, v. 8, n. 1, p. 168-173, 2002.

PAPP, T. et al. RT-PCR diagnosis followed by sequence characterization of paramyxoviruses in clinical samples from snakes reveals concurrent infections within populations and/or individuals. **Vet. Microb.**, Amsterdam, v. 144, n. 3-4, p. 466-472, Aug. 2010a.

PAPP, T.; SEYBOLD, S.; MARSCHANG, R. E. Paramyxovirus infection in a Leopard Tortoise (*Geochelone pardalis babcocki*) with respiratory disease. **J. Herpetol. Med. Surg.**, Lawrence, KS, v. 20, n. 2-3, p. 64-68, June-Sept. 2010b.

PASMANS, F. et al. Introducing reptiles into a captive collection: the role of the veterinarian. **Vet. J.**, London, v. 175, n. 1, p. 53-68, Jan. 2008.

QUINN, P. J. et al. Paramyxoviridae. In: QUINN, P. J.; MARKEY B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Veterinary microbiology and microbial disease**. Oxford: Blackwell Science, 2002. p. 381-389.

RITCHE, B. Virology. In: MADER, D. R. (Ed.). **Reptile medicine and surgery**. St. Louis: Elsevier, 2006. p. 391-417.

SAND, M. A. et al. Molecular diagnosis of paramyxovirus infection in snakes using reverse transcriptase-polymerase chain reaction and complementary deoxyribonucleic acid in situ hybridization. **J. Vet. Diagn. Invest.**, Columbia, MO, v. 16, n. 5, p. 442-448, Sept. 2004.

SANDMEIER, F. C. et al. A trade-off between natural and acquired antibody production in a reptile: implications for long-term resistance to disease. **Biol. Open**, Cambridge, v. 1, n. 11, p. 1078-1082, Nov. 2012.

YUAN, J. et al. Serological evidence of ebolavirus infection in bats, China. **Virology**, [London], v. 9, p. 236, Oct. 2012.

A necessidade do fortalecimento do conhecimento humanístico na formação do médico veterinário: a visão de estudantes do segundo semestre de graduação

Paula TAVOLARO¹

✉ ptavolaro@yahoo.com

The need to strengthen humanistic training in veterinary students: the vision of first-year undergraduates

Resumo

Embora uma das funções do ensino superior seja formar alunos como profissionais e cidadãos, talvez o saber técnico seja favorecido em detrimento da formação humana. A estruturação de disciplinas de humanidades presentes nos cursos universitários com base em problemas detectados no dia a dia de trabalho do futuro profissional pode ajudar o aluno a construir competências e habilidades necessárias para o mundo contemporâneo para além do conhecimento técnico. Este estudo apresenta os resultados de uma atividade realizada na disciplina de Sociologia de um curso de Medicina Veterinária na cidade de São Paulo. Nesta atividade, os alunos discutiam os grupos sociais envolvidos com o trabalho do veterinário e apontavam o grupo que consideravam como o mais complicado de se lidar no futuro dia a dia de trabalho, justificando sua resposta. Foram analisadas 73 atividades e em 59% delas surgiram respostas que demonstravam falta de empatia para com o outro. Os professores do ensino superior devem estar atentos àquilo que seus alunos expressam de maneira clara ou velada, porque estes são indicativos de temas do senso comum que precisam ser transformados, considerando-se a necessidade de um ensino que prepare os alunos para se tornarem profissionais mais humanos, indispensáveis para o mundo contemporâneo.

Recebido em 28 de abril de 2015 e aprovado em 21 de setembro de 2015

Summary

Although one of the functions of higher education is to prepare students to be competent professionals and active citizens, this humane aspect may be superseded by technical knowledge. If humanistic class subjects found in different university courses are structured based on problems found in the daily routine of future professionals, they may aid the student in developing the skills necessary for the contemporary world that go far beyond technical knowledge. This study emphasizes the need for strong humanistic teaching by presenting the results of a classroom activity in Sociology, a subject of the Veterinary undergraduate curriculum. In this activity, students analyzed the social groups involved in routine veterinary work, pointed out which group they considered the most complicated for their future jobs, and justified their answer. Seventy-three texts were analyzed, and 59% of them had answers that evidenced lack of empathy. Higher education teachers should pay attention to their students' clear and veiled statements, as they may be indications of common sense themes that should be transformed in order to train technical professionals with a humanistic sensitivity, which may be more essential than ever in the contemporary world.



Palavras-chave

Educação superior. Médicos veterinários.
Formação humanística.

Keywords

Higher education. Veterinary.
Humanistic training.

O Artigo 43 da Lei 9394 de 20/12/1996, a Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional (BRASIL, 1996), estabelece que a educação superior tem como finalidades, entre outras, estimular a criação de cultura, o desenvolvimento do espírito científico e do pensamento reflexivo; formar profissionais para diferentes áreas; incentivar a pesquisa e a cultura para melhor compreensão do homem e seu meio; estimular o conhecimento dos problemas do mundo; prestar serviços especializados à comunidade; e divulgar a ciência e a tecnologia geradas na universidade. Adicionalmente a este instrumento legal, as diretrizes curriculares para o ensino de graduação em Medicina Veterinária, estabelecidas pela Resolução CNE/CES no 1 de 18/02/2003 (BRASIL, 2003, Art. 3o) determinam que o egresso deve ter uma “[...] formação generalista, humanista, crítica e reflexiva, apto a compreender e traduzir as necessidades de indivíduos, grupos sociais e comunidades [...]”. Para isso, as diretrizes apontam as ciências humanas e sociais integradas ao currículo técnico como importante contribuição para a formação do médico veterinário.

Neste trabalho, os termos humano e humanístico serão usados de acordo com Lifshitz (1997) que considera que “humano” é relativo à natureza do homem (seus pontos fortes e fracos, seus vícios e virtudes) e “humanista/humanístico” como o uso de disciplinas da área de humanidades com o objetivo de ampliar a cultura geral. Desta forma, no currículo atual de medicina veterinária, existem disciplinas que lidam com a formação humana e humanística dos alunos de graduação de forma transversal (como a Extensão e Saúde Pública, Gestão de Pessoas e Negócios, Comunicação e Expressão) ou diretamente,

¹ Médica-veterinária, Mestre em Ciência dos Alimentos e Doutora em Epidemiologia Experimental e aplicada às Zoonoses, Especialista em Magistério do Ensino Superior; professora de Sociologia, Gestão de Pessoas e de Negócios no curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas.

como a Antropologia, Filosofia e Sociologia, que é o foco do presente trabalho.

Nas Diretrizes Curriculares Nacionais dos Cursos de Graduação em Medicina Veterinária (BRASIL, 2003), o ensino de ciências humanas e sociais, no qual a disciplina de sociologia está inserido, deve englobar “[...] os conteúdos referentes às diversas dimensões da relação indivíduo/sociedade, contribuindo para a compreensão dos determinantes sociais, culturais, comportamentais, psicológicos, ecológicos, éticos e legais [...]” (Art. 6º, II). Além disso, no seu Art. 10, as diretrizes apontam que o “currículo deverá contribuir, também, para a compreensão, interpretação, preservação, reforço, fomento e difusão das culturas nacionais e regionais, internacionais e históricas, em um contexto de pluralismo e diversidade cultural”; e no Art. 12 (IX), mostra-se que a estrutura do curso deve assegurar a educação e a “valorização das dimensões éticas e humanísticas, desenvolvendo no aluno e no médico veterinário atitudes e valores orientados para a cidadania e para a solidariedade”.

Pensando na importância dos aspectos determinados pelas Diretrizes Curriculares Nacionais dos Cursos de Graduação em Medicina Veterinária (BRASIL, 2003) e no exposto em outras análises da formação profissional (CAMPOS et al., 2008; CFMV, 2012; WAGNER, 2008), a disciplina Sociologia Veterinária de um curso superior de veterinária foi reestruturada com o objetivo de unir mais eficientemente o arcabouço teórico da sociologia clássica com a discussão sobre a relação entre o médico veterinário e a sociedade à qual ele serve. A reestruturação baseou-se inicialmente nos achados de Arum e Roksa (2011) visando melhorar a capacidade de leitura e de escrita, assim como o desenvolvimento do pensamento crítico dos alunos, e teve como tema central a noção de grupos sociais e da diferença entre intragrupo e extragrupo apresentada por Bauman e May (2010b). A decisão pela centralidade deste tema foi efetuada com base em observações anteriores de alunos em sala de aula que apontaram para a necessidade da discussão da tolerância para com o outro, o olhar empático e a diminuição das barreiras sociais, culturais e psicológicas entre grupos sociais diferentes (dados não apresentados).

A literatura traz poucas informações sobre as posturas e opiniões dos alunos do ensino superior durante a universidade e das suas expectativas sobre o futuro, mas o desequilíbrio entre o mundo acadêmico e o mundo do trabalho já foi descrito. Por exemplo, Colenci e Berti (2012), na área de enfermagem, mostraram o descompasso entre a educação profissional e as demandas do mercado, apontando a necessidade da implantação de mudanças efetivas nas práticas de ensino e de integração

do currículo e das práticas pedagógicas com a realidade. Canever et al. (2014), na mesma área, mostraram que o egresso valoriza profundamente o “saber-fazer em detrimento do saber-ser” (p. 92, grifo nosso). Na Medicina Veterinária, Montoya (2012), mostra a universidade apenas como um passo para acreditação para o trabalho: o estudo e o aprendizado que acontecem como formas de iluminação e crescimento pessoal são deixados de lado.

Considerando-se que informações sobre as expectativas, posturas e valores dos egressos e graduandos podem servir como alerta e direcionar transformações nos cursos superiores, este trabalho teve como objetivos analisar as opiniões dos alunos de segundo semestre de um curso privado de Medicina Veterinária da cidade de São Paulo, Brasil, sobre os seus futuros clientes e discutir as implicações destes achados para a formação de profissionais com perfis coerentes e necessários para a realidade do mundo contemporâneo.

2 Material e Métodos

A atividade em sala de aula

Alunos do segundo semestre de um curso privado de medicina veterinária da cidade de São Paulo foram instruídos a ler os capítulos 1 e 2 do livro *Aprendendo a pensar com Sociologia*, de Bauman e May (2010a,b), que contemplavam como temática questões relativas à existência de livre-arbítrio, à influência dos grupos sociais sobre as decisões individuais, à vinculação a um ou vários grupos, à noção de intragrupo e extragrupo e o tratamento reservado a quem pertence ao grupo (intragrupo) e a quem está fora dele (extragrupo). Nesta fase, além da leitura guiada por um questionário, houve uma discussão na qual os participantes analisaram atitudes automáticas, pré-julgamentos e preconceitos que pudessem ter, de forma a se tornarem mais empáticos para com os outros, a aceitarem as diferenças entre eles e as pessoas com quem trabalharão no futuro, e a estarem mais abertos para a diversidade do mundo.

O passo seguinte foi a elaboração de uma síntese dos temas mais importantes que surgiram da leitura orientada. Como produto final desta etapa, cada aluno deveria apresentar um comentário escrito sobre a área em que gostaria de trabalhar no futuro e as relações do veterinário com diferentes grupos sociais nesta área de escolha. Neste comentário, o aluno deveria também apontar o grupo que considerasse o mais desafiador no seu futuro dia a dia de trabalho e justificar a sua resposta.

Os alunos foram informados que as suas respostas seriam usadas para este trabalho e autorizaram o seu uso.

As respostas foram tabuladas e submetidas à análise do conteúdo segundo Lefèvre, Crestana e Cornetta (2003), separando-se as expressões-chave (os trechos mais significativos das respostas) e as ideias centrais (a síntese do conteúdo discursivo) e, a partir delas, foi montado o discurso do sujeito coletivo que tratava do grupo considerado mais desafiador.

3 Resultados e discussão

3.1 Futura área de trabalho

Foram analisados 73 comentários escritos pelos alunos e, destes, 17 (23,3%) não responderam em que área gostariam de trabalhar; 29 (39,7%) deles optaram pela clínica de animais de companhia e nove (12,3%) pelo trabalho com equinos; quatro (5,5%) com clínica de grandes animais e três (4,1%), com cirurgia. O restante das respostas foi dividida em áreas diferentes, com escolha por um ou dois alunos, apenas.

Tabela 1 - Ideias centrais e número de respostas para as justificativas positivas e negativas dadas pelos alunos para os grupos mais complicados de se lidar no futuro dia a dia de trabalho. São Paulo, 2014

Respostas positivas	N
Cada pessoa é diferente e temos que aprender a lidar com elas	18
O veterinário tem que saber se comunicar	15
O veterinário tem que ter paciência para lidar com o proprietário	9
O proprietário é quem paga e recomenda o serviço	2
O insucesso do veterinário causa perdas emocionais e financeiras	2
Total	46 (44%)
Respostas negativas	N
O proprietário/tratador mente, oculta verdade e omite informações	9
O proprietário/tratador age de acordo com o hábito e a conveniência	7
O proprietário/tratador não segue as recomendações do veterinário	7
O proprietário é muito exigente	6
O sucesso do tratamento depende do proprietário/tratador	6
O proprietário/tratador põe animal em risco	5
O proprietário/tratador não pensa no bem-estar do animal	3
O proprietário/tratador não tem conhecimento	3
O proprietário só pensa no aspecto financeiro	3
O proprietário tem pouco contato com o animal e não sabe o que está acontecendo	3
O proprietário vem informado e questiona o veterinário	2
O proprietário ama o animal excessivamente	2
O proprietário não admite que veterinário esteja certo	1
O proprietário não entende o veterinário	1
O proprietário ofende o veterinário	1
Total	56 (59%)

3.2 O grupo social mais complicado de se lidar

Dos 73 comentários analisados, 55 apresentaram uma resposta sobre qual o grupo social os alunos acreditavam ser o mais complicado de se lidar no futuro dia a dia de trabalho: 44 dos alunos (80%) apontaram o proprietário; cinco (9,1%), o proprietário e o tratador; três (5,5%), o estagiário e três (5,5%) o tratador.

3.3 As justificativas para o grupo mais complicado de se lidar

A tabela 1 apresenta as ideias centrais que surgiram das justificativas sobre o grupo mais complicado de se lidar no futuro. As 55 respostas produziram 105 justificativas, uma vez que cada resposta podia conter mais de uma afirmativa para justificá-la. As justificativas foram consideradas positivas quando expressavam empatia, tolerância e respeito pelo outro, e negativas quando não expressavam estes valores.

O Discurso do sujeito coletivo foi montado de acordo com Lefèvre, Crestana e Cornetta (2003) e Lefèvre e Lefèvre (2006) e está apresentado a seguir, com relação às respostas negativas e positivas dos alunos sobre o proprietário, o grupo apontado como problemático de forma mais frequente (80%).

Pergunta: qual o grupo que você considera o mais desafiador no seu futuro dia a dia de trabalho? Justifique sua resposta.

Discurso do sujeito coletivo - respostas negativas: “Ao meu ver, creio que a pessoa mais problemática serão os proprietários de animais, pois são os mais exigentes e teimosos. Como o proprietário não tem conhecimento, vai exigir coisas demais, podendo deixar o animal em risco. Cada indivíduo tem uma forma de lidar com o animal que muitas vezes não é correta. Muitas vezes, não seguem as orientações do médico veterinário, querem que o animal fique bem muito rápido para voltar as suas atividades e nem pensam no bem estar animal, só querem ganhar dinheiro. Os que mais me preocupam são os proprietários irresponsáveis, que omitem os fatos. Não sou muito paciente, principalmente quando vejo algo errado”.

Discurso do sujeito coletivo - respostas positivas: “O proprietário é o mais desafiador, até porque ele é a maior “fonte de renda” e divulgador do veterinário. Além disso, o sucesso do tratamento depende da sua adesão. Existe uma pressão muito grande em cima do médico, esquecendo que ele é um ser humano e pode errar. Vou ter que aprender a lidar com cada um e suas formas de pensar e agir. Terei que saber ouvir e saber explicar o meu ponto de vista, e ser mais calma. Preciso aprender também a tratar e respeitar os proprietários, não os julgando como pessoas ignorantes e que não se esforçam para dar o melhor ao seu bichinho. Lidar com vidas é muito difícil. Requer muita paciência, vontade e habilidades. Eu pacientemente terei que explicar e responder a todas as perguntas. Nem todo mundo pensa igual”.

4 Discussão

A grande porcentagem (59%) de respostas em que aparecem expressões de resistência ao outro foi o impulso para que este trabalho fosse escrito. Embora estes alunos

estejam apenas no início do curso e, por isso, possam ter um entendimento limitado do trabalho veterinário - além do grande número de abstenções (23,3%) - é importante que as afirmações consideradas intolerantes, pouco empáticas e de imposição do pensamento médico como “aquilo que é certo” sejam claramente abordadas e discutidas em aula, para que os alunos não permaneçam considerando seu trabalho como futuros agentes de saúde como sendo parte de uma polícia sanitária, mentalidade que remonta aos tempos de Oswaldo Cruz e da Revolta da Vacina no Rio de Janeiro (1904):

Esta visão datada da profissão leva a três pontos importantes a serem destacados: o descompasso entre as expectativas dos futuros clientes e a postura dos alunos; o peso do conteúdo técnico em detrimento da formação humana e humanística; e o papel dos professores e da universidade no desenvolvimento humano e humanístico dos alunos de graduação.

4.1 O descompasso com as expectativas dos clientes

A maioria dos alunos (39,7%) mostrou nas suas respostas que desejava trabalhar com clínica de animais de companhia. Milani (2008) destaca que este cliente quer apenas que o veterinário seja amável, observador, capaz de contato visual, que encoraje perguntas e as responda. Entretanto, as respostas dadas pelos alunos mostram que, neste momento, uma boa parte deles não seria capaz de atender às expectativas dos seus clientes. Ressalte-se ainda que muito embora a vivência na universidade e com outros profissionais em estágios possa mudar este aluno de início de curso, Montoya (2012) afirma que para se definir o que queremos da educação superior, temos que compreender a relação entre a sociedade e a profissão. Discussões como a proposta aqui podem ajudar a elucidar esta relação.

É possível que a relação entre a sociedade e a profissão ainda seja mal definida pelo viés fortemente tecnicista do currículo do ensino de veterinária, como observou Canever et al. (2014) para a enfermagem. Esta ênfase no conhecimento técnico separa os veterinários e a sociedade em dois grupos em oposição, um intragrupo (aqueles que têm o conhecimento) e um extragrupo (aqueles que não o têm). Bauman e May (2010b) destacam que, “[...] extragrupo é justamente aquela oposição imaginária a si mesmo que o intragrupo necessita para estabelecer sua autoidentidade [...]. Desse modo, a boa vontade para cooperar [...] exige [...] a recusa à cooperação com um adversário” (Bauman e May (2010b), p. 55).

4.2 O peso do conteúdo técnico em detrimento da formação humana e humanística

Apesar das competências humanísticas propostas para a medicina veterinária (CFMV, 2012) estarem de acordo com o perfil determinado por Wagner (2008) e por documentos sobre o futuro do ensino superior (BRASIL, 2008; 2009 World Conference..., 2009) a concentração no conteúdo técnico pode ser enxergada na lista das 17 competências específicas para esta profissão (BRASIL, 2003). Destas, apenas cinco têm relação com a formação humana e humanística dos alunos: o respeito à ética profissional; o relacionamento com o outro dentro e fora do trabalho, visando o bem estar social; a compreensão do contexto social; a flexibilidade para a mudança conceitual e tecnológica do mundo; o uso do senso crítico para se avaliar as informações recebidas no ensino de graduação e no mundo profissional. O peso do conteúdo técnico aliado à falta de especificidade destas competências humanísticas pode fazer com que elas não sejam formalmente abordadas e desenvolvidas, como acontece em outros níveis de ensino (WAGNER, 2008).

4.3 O papel dos professores e da universidade no desenvolvimento humano e humanístico dos alunos de graduação

Embora os temas abordados neste trabalho possam ser discutidos de forma transversal em várias disciplinas do currículo de graduação em medicina veterinária, a sociologia e outras disciplinas humanísticas são momentos ideais para se fortalecer estas competências, pois não existe o peso do conteúdo técnico e temas transversais e transdisciplinares do mundo do trabalho podem ser aprofundados em conjunto com a ampliação da cultura geral dos alunos. O problema, entretanto, é que estas disciplinas perderam a sua importância dentro dos cursos universitários (BERHEIM; CHAUI, 2008).

Além disso, algumas faculdades estão transformando a carga humanística dos cursos de graduação em disciplinas cursadas a distância. Para o mundo de hoje, esta é uma solução esperada e importante, mas a migração deve ser realizada de forma cuidadosa e não se tendo em mente apenas a economia de recursos. As potencialidades das tecnologias não podem ser superestimadas: “A relação pessoal e real docente/aluno é fundamental e nunca poderá ser substituída por um relacionamento máquina /usuário” (BERHEIM; CHAUI, 2008, p. 29).

São os professores que podem observar os alunos e gerar discussões como a que foi proposta aqui. Em um sistema de educação à distância em que não haja a

participação efetiva e intensa dos professores, ou em que o número de alunos por tutor seja excessivo (já que não há uma definição oficial para esta relação) (MENDES, 2012), este espaço pode não existir. Entretanto, estas questões podem já não ser discutidas em classe no ensino presencial ou mesmo no mundo de trabalho da veterinária. Por exemplo, foram encontrados poucos artigos que ligassem a profissão de veterinário a seus valores, seja no ensino ou no dia a dia de trabalho, em uma revista de uma entidade de classe (TAVOLARO et al., 2011).

5 Limitações

Obviamente, existem limitações nesta análise. Os alunos entrevistados estão no segundo semestre do curso de graduação em medicina veterinária e, ao longo do curso, sua postura, atitude e valores podem mudar, principalmente pela maior experiência com as pessoas e com o dia a dia de trabalho em estágios e experiências profissionais. Entretanto, em outras áreas de formação (COLENCI; BERTI, 2012), os recém-graduados relataram que sua experiência prática durante a faculdade foi insuficiente. O mercado e os empregadores têm a mesma percepção (CAMPOS et al., 2008; COMMONWEALTH OF AUSTRALIA, 2007).

6 Considerações finais

Embora esta seja uma questão multidimensional, há indícios de que o fortalecimento da formação humana e humanística faz com que os profissionais se tornem mais necessários e compreendam melhor as demandas e expectativas do mundo real (WAGNER, 2008, 2012). As respostas dos alunos analisadas aqui são um alerta para a implantação de mudanças na sua formação no ensino superior.

É muito importante que os professores estejam atentos àquilo que seus alunos expressam de maneira clara ou velada, porque estas manifestações são indicativas de temas do senso comum que precisam ser transformadas pela educação, discussão e descoberta ativa, de forma a enriquecer a formação veterinária para além da técnica e do conhecimento científicos em todas as disciplinas do curso, formando profissionais críticos e participativos. Para que esta abordagem seja bem sucedida, é importante que os professores busquem atividades que sejam relevantes e pertinentes para os alunos, trabalhem em equipe, se envolvam com seu trabalho docente, dividam seus conhecimentos com seus pares e lutem contra o pensamento fragmentado, buscando “[...] pensar e agir de forma complexa [...], integrada, transversa e inter/

transdisciplinar [pois] não é possível permanecer apenas no nível da simplificação” (MARTINAZZO; DRESC, 2013, p. 52).

A formação no ensino superior tem que deixar claro que temos de estar abertos à tolerância, à empatia e ao trabalho com a diversidade humana. Temos uma responsabilidade moral para com os outros seres humanos “[...] simplesmente porque eles são seres humanos, e o impulso moral daí oriundo não exige nenhum argumento, legitimação ou prova além desta noção” (BAUMAN; MAY, 2010b, p. 71).

Agradecimentos

Este trabalho não teria sido possível sem as discussões, participação e apoio de outros professores: Ana Cláudia Balda, Tamara Leite Cortez, Carolina Beltramine de Carvalho Donola, Eliana Ferrari e Bianca Santos. ☺

Referências

2009 World Conference on Higher Education: the new dynamics of higher education and research for societal change and development, 2009, Paris. **Conference...** Unesco: Paris, 2009. Disponível em: <http://www.unesco.org/fileadmin/MULTIMEDIA/HQ/ED/ED/pdf/WCHE_2009/FINAL%20COMMUNIQUE%20WCHE%202009.pdf>. Acesso em: 3 jan. 2015.

ARUM, R.; ROKSA, J. **Academically adrift**: limited learning on college campuses. Chicago: University of Chicago Press, 2011.

BAUMAN, Z.; MAY, T. Alguém com os outros. In: BAUMAN, Z.; MAY, T. **Aprendendo a pensar com a sociologia**. Rio de Janeiro: Zahar, 2010a. p. 33-49.

BAUMAN, Z.; MAY, T. Observação e sustentação de nossas vidas. In: BAUMAN, Z.; MAY, T. **Aprendendo a pensar com a sociologia**. Rio de Janeiro: Zahar, 2010b. p. 51-73.

BERHEIM, C. T.; CHAUI, M. S. **Desafios da universidade na sociedade do conhecimento**: cinco anos depois da conferência mundial sobre educação superior. Brasília: UNESCO, 2008. Disponível em: <<http://unesdoc.unesco.org/images/0013/001344/134422por.pdf>>. Acesso em: 3 jan. 2015.

BRASIL. Lei nº 9.394, de 20 de dezembro de 1996. Estabelece as diretrizes e bases da educação nacional. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 dez. 1996. Seção 1, p. 27833-27841. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9394.htm>. Acesso em: 7 jan. 2015.

BRASIL. Ministério da Educação. **Documento referência para o fórum nacional de educação superior**. [S.l.: s.n.], 2008. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/cne/arquivos/pdf/forum/documento_base.pdf>. Acesso em: 3 jan. 2015.

BRASIL. Ministério da Educação e Cultura. Conselho Nacional de Educação. Câmara de Educação Superior. Resolução CNE/CES 1, de 18 de fevereiro de 2003. Institui Diretrizes Curriculares Nacionais dos Cursos de Graduação em Medicina Veterinária. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 fev. 2003. Seção 1, p. 15. Disponível em: <<http://portal.mec.gov.br/cne/arquivos/pdf/ces012003.pdf>>. Acesso em: 7 ago. 2014.

CAMPOS, K. C. L. et al. Empregabilidade e competências uma análise de universitários sob a ótica de gestores de recursos humanos. **Rev. Psi**: org. trab. r. eletr. psico., Brasília, v. 8, n. 2, p. 159-183, jul.-dez. 2008.

CANEVER, B. P. et al. Processo de formação e inserção no mercado de trabalho: uma visão dos egressos de enfermagem. **Rev. Gaúcha Enferm.**, Porto Alegre, v. 35, n. 1, p. 87-93, mar. 2014.

CARRETA, J. A. Médicos e a revolta da vacina. **Teor. Pesq.**, São Carlos, v. 18, n. 1, p. 143-169, 2009. Disponível em: <<http://www.teoriaepesquisa.ufscar.br/index.php/tp/article/viewFile/164/140>>. Acesso em: 16 jan. 2015.

CFMV - Conselho Federal de Medicina Veterinária. **Estratégias de ensino aprendizagem para desenvolvimento de competências humanísticas**: propostas para formar veterinários para um mundo melhor. Brasília: CFMV, 2012. Disponível em: <http://portal.cfmv.gov.br/uploads/files/Estrategias%20de%20Ensino-aprendizagem%20para%20Desenvolvimento%20das%20Competencias%20Humanisticas_site.pdf>. Acesso em: 7 ago. 2014.

COLENCI, R.; BERTI, H. W. Professional development and entering the labor Market: the perception of nursing graduates. **Rev. Esc. Enferm. USP**, São Paulo, v. 46, n. 1, p.153-161, fev. 2012.

COMMONWEALTH OF AUSTRALIA. **Graduate employability skills**: prepared for the business, industry and higher education collaboration council. [Austrália]: Commonwealth of Australia, 2007. Disponível em: <<http://aces.shu.ac.uk/employability/resources/GraduateEmployabilitySkillsFINALREPORT1.pdf>>. Acesso em: 19 set. 2014.

LEFÈVRE, A. M. C.; CRESTANA, M. F.; CORNETTA, V. K. A utilização da metodologia do discurso do sujeito coletivo na avaliação qualitativa dos cursos de especialização “Capacitação e Desenvolvimento de Recursos Humanos em Saúde-CADRHA”, São Paulo, 2002. **Saúde Soc.**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 68-75, jul./dez. 2003.

LEFÈVRE, F.; LEFÈVRE, A. M. C. O sujeito coletivo que fala. **Interface**: comunic., saúde, educ., Botucatu, v. 10, n. 20, p. 517-524, jul./dez. 2006.

LIFSHITZ, A. Lo humano, humanístico, humanista y humanitario en medicina. **Gac. Med. Mex.**, México, v. 133, n. 3, p. 237-243, mayo-jun. 1997.

MARTINAZZO, C. J.; DRESC, O. I. A compreensão do princípio da incerteza e suas implicações no processo de educação escolar. **Impulso**, Piracicaba, v. 23, n. 58, p. 47-57, out.-dez. 2013.

MENDES, V. O trabalho do tutor em uma instituição pública de ensino superior. **Educ. Rev.**, Belo Horizonte, v. 28, n. 2, p. 103-132, jun. 2012.

MILANI, M. What veterinary clients really want, too? **Can. Vet. J.**, Ottawa, v. 49, n. 10, p.1021-1024, Oct. 2008.

MONTOYA, F. N. Políticas educativas y educación profesional: um análisis colombiano desde la veterinaria. **Rev. Colomb. Cienc. Pecu.**, Medellín, v. 25, n. 1, p.151-159 mar. 2012.

MORIN, E. Sobre a reforma universitária. In: MORIN, E.; ALMEIDA, M. C.; CARVALHO, E. A. (Org.). **Educação e complexidade**: os sete saberes e outros ensaios. São Paulo: Cortez, 2002. p. 11-25.

TAVOLARO, P. et al. Discussão e algumas propostas para a educação em valores no ensino de medicina veterinária. **Rev. Educ. Cont. Med. Vet. Zootec**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 6-11, 2011.

WAGNER, T. **Creating innovators**: the making of young people who will change the world. Nova York: Scribner, 2012.

WAGNER, T. **The global achievement gap**: why even our best schools don't teach the new survival skills our children need and what we can do about it. Nova York: Basic Books, 2008.



XXIV SEMANA DO VPT

XXIV SEMANA DO VPT**XXIV SEMANA CIENTÍFICA PROF. DR. BENJAMIN EURICO MALUCELLI**

De 14 a 16 de outubro de 2015

Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP)

São Paulo (SP) – Brasil

APRESENTAÇÕES DE PÔSTER - CATEGORIA INICIAÇÃO CIENTÍFICA**EFEITO DA SENESCÊNCIA NA QUALIDADE SEMINAL DO SÊMEN FRESCO E APÓS CRIOPRESERVAÇÃO EM CÃES – ESTUDO RETROSPECTIVO**BRITO, MÁFRA MORALES¹; ALMEIDA, LETICIA LIMA¹; NICHÍ, MARCÍLIO¹; VANNUCCHI, CAMILA INFANTOS¹¹Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo

Introdução e Objetivos: Nos machos de diversas espécies, o avanço da idade promove alterações negativas nos parâmetros de qualidade espermática, assim como no processo de criopreservação seminal. O presente trabalho é uma análise retrospectiva das diferenças na qualidade seminal em amostras de sêmen fresco e criopreservado em cães jovens (1-5 anos) e senis (≥6 anos).

Material e métodos: Foram analisados os espermiogramas realizados pelo Serviço de Inseminação Artificial do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo no período de 2003 a 2015. Os dados de cães jovens e senis foram classificados segundo o processamento das amostras em: sêmen fresco (n=118) e sêmen fresco e descongelado (n=34). O sêmen foi colhido por manipulação digital peniana e submetido ou não à criopreservação, utilizando-se o diluidor Tris-frutose-ácido cítrico com 5% de glicerol. A descongelação foi realizada a 37°C por 30 segundos. Para o sêmen fresco, foram avaliadas as variáveis de: libido (escore 0 a 3), volume e aspecto do ejaculado e concentração espermática; enquanto para o sêmen criopreservado foi avaliada a motilidade e vigor espermático, integridade de membrana plasmática e acrossomal (coloração de eosina/nigrosina e *fast green*/rosa bengala, respectivamente) e porcentagem de defeitos espermáticos maiores e menores por meio da preparação em câmara úmida com formol salino. O tratamento estatístico foi efetuado com os testes T Student ou Wilcoxon em P≤0,05. **Resultados e Discussão:** Nas amostras de sêmen fresco, não houve diferença entre os grupos jovens e senis para as variáveis: volume, aspecto e concentração espermática; contudo, os cães jovens apresentaram maior libido que os senis (2,77±0,07 e 2,37±0,1, respectivamente). No sêmen criopreservado, não houve diferença estatística quanto à motilidade espermática, porcentagem de defeitos maiores e integridade da membrana plasmática e acrossomal: porém, os animais senis apresentaram maior porcentagem de defeitos espermáticos menores (8,31%±0,99) que os jovens (5,59%±0,77); a variável vigor apresentou os valores: jovens: 3,39±0,15; senis: 3,01±0,12. **Conclusão:** Os cães senis apresentam comprometimento da libido sexual e redução da qualidade seminal com aumento na produção de espermatozoides defeituosos e portanto as biotécnicas reprodutivas devem ser empregadas com reprodutores jovens com um a cinco anos de idade. **Palavras-chave:** Sêmen. Criopreservação. Cães. Qualidade seminal.

PROJETO EM ANDAMENTO: PROPENTOFILINA IMPEDE PERDA DE PESO INDUZIDA PELO LPS DURANTE O COMPORTAMENTO DOENTIO EM RATOS ()GALVÃO, MARCELLA CRISTINA¹; MORAES, MÁRCIA MARIA TIVELLI²; KIRSTEN, THIAGO BERTI^{1, 2}¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil. ²Patologia Ambiental e Experimental, Universidade Paulista, São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: Dentre os transtornos mentais, a alta incidência de casos de depressão em seres humanos é um motivo de grande preocupação, pois na atualidade, é uma das principais causas de desemprego e suicídio que implica em longos e caros tratamentos. Pouco se sabe sobre a sua etiologia, incluindo fatores genéticos, psicológicos, farmacológicos e, possivelmente, por ativações imunes/inflamatórias. Nesse sentido, os medicamentos que interferem com o sistema neuroimune têm sido testados para o tratamento da depressão, especialmente os anti-inflamatórios. A propentofilina, um derivado xantínico, tem exibido efeitos neuroprotetores, antioxidantes e anti-inflamatórios. **Material e Métodos:** Quarenta ratos machos foram tratados com propentofilina por cinco dias consecutivos na tentativa de prevenir ou de amenizar o comportamento doentio e tipo-depressivo experimentalmente induzidos por administrações repetidas de lipopolissacarídeo (LPS, endotoxina bacteriana gram-negativa). **Resultados e Discussão:** Decorridas 24 a 48 horas da administração repetida do LPS foi constatado que os animais tratados apresentaram perda de peso quando comparados aos animais do grupo controle. Dois dias após a realização do tratamento diário com propentofilina, os animais apresentaram aumento do peso corporal. O tratamento com a propentofilina nos animais que receberam LPS impediu a perda de peso induzida pelo LPS. A comprovação de que o tratamento com propentofilina impediu a perda de peso induzida pelo LPS reside no fato de que esse grupo apresentou peso estatisticamente similar ao dos animais controles em todos os dias avaliados. **Conclusões:** O presente trabalho é o primeiro resultado que sustenta a hipótese de que propentofilina tem um efeito benéfico nos animais expostos ao LPS, impedindo a perda de peso induzida pela endotoxina bacteriana. Esses resultados encorajam a continuidade dos estudos planejados para a próxima etapa do projeto, que devem revelar se a propentofilina tem efeito benéfico nos comportamentos doentio e tipo-depressivo, além de seu mecanismo de ação. Para tal serão avaliados: a atividade geral em campo aberto, o teste do nado forçado, bem como, os níveis plasmáticos de fator de necrose tumoral alfa. **Apoio financeiro:** FAPESP Processo nº 2014/25113-5. **Palavras-chave:** Comportamento animal. Lipopolissacarídeos. Perda de peso. Peso corporal.

EXPRESSÃO DO FATOR DE PLURIPOTÊNCIA NANOG EM MASTOCITOMAS CUTÂNEOS CANINOSJOSELEVITCH, JULIA ANTONGIOVANNI¹, BARRA, CAMILA NERI^{1,2}, VARGAS, THIAGO HENRIQUE MORONI¹, STREFEZZI, RICARDO DE FRANCISCO¹.¹Laboratório de Oncologia Comparada e Translacional (LOCT), Departamento de Medicina Veterinária da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, Pirassununga, SP.²Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, São Paulo, SP.E-mail: julia.joselevitch@usp.br

Introdução e Objetivos: Os mastocitomas cutâneos são tumores caracterizados pela proliferação de mastócitos neoplásicos que se originam na derme e na espécie canina, representam quase um quarto dos tumores malignos de pele, com maior incidência em animais idosos. A imprevisibilidade do comportamento biológico dos mastocitomas gera grande dificuldade para a definição de protocolos de tratamento, o que justifica a intensa busca de indicadores prognósticos e preditivos. A verificação da expressão de NANOG em mastocitomas é de grande importância para a avaliação prognóstica dos pacientes acometidos, pois esta proteína está relacionada com a manutenção da pluripotencialidade e autorrenovação de células-tronco cancerosas. Desta forma, o presente trabalho caracterizou a expressão de NANOG em amostras de mastocitoma cutâneo canino e comparou os resultados obtidos com os métodos de gradação histopatológica propostos por Kiupel et al. (2011) e Patnaik et al. (1984). **Material e Métodos:** Por imunistoquímica com anticorpo policlonal de coelho anti-NANOG (Abcam, ab80892), adotando-se os critérios de Patnaik a expressão de NANOG foi caracterizada em 19 mastocitomas – sete de grau I, cinco de grau II e sete de grau III, já com os critérios de Kiupel em 12 de baixo grau e sete de alto grau. As reações foram quantificadas determinando-se a porcentagem de células positivas em cinco campos de alta frequência de marcação por acaso. Os resultados obtidos foram comparados com o emprego dos testes de ANOVA/Kruskal-Wallis e de Mann-Whitney, para 5% de significância. **Resultados e Discussão:** Todos os casos analisados apresentaram marcação nuclear positiva para NANOG, com variação de porcentagem de células marcadas. Houve maior expressão de NANOG em casos de baixo grau histopatológico. Não foram detectadas diferenças entre os grupos tanto na gradação de Patnaik, como na de Kiupel. **Conclusões:** Os resultados sugerem a ausência de relação entre a expressão de NANOG e o grau de diferenciação histológica em mastocitomas cutâneos caninos. Faz-se necessário o acompanhamento de um maior número de casos para a confirmação das observações aqui relatadas. **Apoio financeiro:** FAPESP (processos 2013/13252-8 e 2014/20872-5). **Palavras-chave:** Mastocitoma cutâneo. Cães. Expressão de NANOG.

DOENÇA DA DILATAÇÃO PROVENTRICULAR EM DUAS AVES NECROPSIADAS NO SERVIÇO DE PATOLOGIA DA FMVZ – USPBISSON, THAÍS AMANDA¹, GOMES, RAQUEL GONÇALVES¹; LIMA, JOSÉ CESAR MENK PINTO¹; RODRIGUES, DANILO MARIN¹; TORRES, LUCIANA NEVES¹; GUIMARÃES, MARTA BRITO²; SÁ, LILIAN ROSE MARQUES¹¹Serviço de patologia- Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP.²Ambulatório de aves – Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP

Introdução: A doença da dilatação proventricular (proventricular dilatation disease - PDD) é uma condição infecciosa progressiva, que acomete principalmente os nervos autônomos periféricos do trato gastrointestinal e sistema nervoso central de aves. Os seus sinais clínicos incluem perda de peso, alimentos não digeridos presentes nas fezes, regurgitação, fraqueza, ataxia, deficiência proprioceptiva e cegueira. Os sinais gastrointestinais, incluindo a dilatação do proventrículo, são secundários a lesões nos nervos gastroentéricos. O presente trabalho descreve as alterações anatomopatológicas da doença da dilatação proventricular em psitacídeos e reforça a importância da confirmação do seu diagnóstico com o exame histopatológico. **Relato de Caso:** Foram recebidas para exame necroscópico uma arara macaú

(*Ara macaú*) e uma cacatua (*Cacatua galerita*), adultas, machos. A macroscopia, ambas estavam marcadamente magras, o fígado e o baço apresentavam tamanho reduzido, havia marcante dilatação proventricular e dilatação de alças intestinais, que apresentavam conteúdo líquido. A microscopia, foi observado poliganglionite e poliperineurite linfoplasmocítica em nervos gastroentéricos do proventrículo, ventrículo, intestinos, encefalite não-supurativa associada à desmielinização, infiltrado linfoplasmocítico ao redor de plexos nervosos no miocárdio e adrenalite linfoplasmocítica. A causa *mortis* dos dois animais foi colapso hipovolêmico por enterite associada a má absorção. **Discussão:** O diagnóstico definitivo da DDP se baseia no exame histopatológico, o qual foi característico nestes casos. No nosso meio essa doença apresenta frequência desconhecida e o exame anatomopatológico é um método que pode ser aplicado nos centros de diagnósticos. **Palavras-chave:** Aves. Proventrículo. Psitacídeos. Doença da Dilatação Proventricular.

MENINGOENCEFALOMIELE GRANULOMATOSA DISSEMINADA EM UM CÃO DA RAÇA LHASA APSOLIMA, JOSÉ CESAR MENK PINTO¹, BISSON, THAÍS AMANDA¹, GOMES, RAQUEL GONÇALVES¹, TORRES, LUCIANA NEVES¹, SÁ, LILIAN ROSE MARQUES¹¹Serviço de Patologia – Hospital Veterinário (HOVET) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP)

Introdução e Objetivos: A Meningoencefalomielite Granulomatosa (MEG) em animais da espécie canina é uma condição inflamatória não supurativa progressiva do sistema nervoso central (SNC) pouco descrita em nosso meio. Ocorre principalmente em animais de raças pequenas, jovens ou de meia idade, com maior frequência em fêmeas. O presente trabalho descreve as lesões histopatológicas encontradas em um Lhasa Apso acometido por MEG. **Relato de Caso:** Uma cadela fêmea de três anos de idade, Lhasa Apso, apresentou histórico de tremores e tratamento para dor cervical aguda, que progrediram para *status epilepticus* e morte. No exame radiológico foi diagnosticada a discopatia cervical. Ao exame necroscópico, foi constatado edema e congestão pulmonar, discreta esplenomegalia, discreta hepatomegalia e aumento do espaço intervertebral correspondente a t1 e t2, com discreta redução do diâmetro do canal medular neste mesmo ponto. O encéfalo e a medula espinhal não apresentavam alterações macroscópicas. Microscopicamente, em encéfalo, meninges e medula espinhal cervical e torácica foi observada a proliferação de macrófagos epitelioides distribuídos em granulomas multifocais e perivasculares associados a manguitos perivasculares linfocitoplasmáticos em substância branca do cérebro, tronco encefálico e medula espinhal cervical e torácica. **Conclusão:** A disseminação das lesões nos quadros de MEG ao longo da medula espinhal é incomum e deve ser considerada nos quadros neurológicos periféricos em cães. **Palavras-chave:** Cães. Lhasa Apso. Meningoencefalomielite Granulomatosa.

PROJETO: EFEITOS DA HIPERPROLACTINEMIA EM UM MODELO MURINO DE INFLAMAÇÃO PULMONAR AGUDA

BARRETO, TALITA ROSSETTO SOUZA, CAROLINA COSTOLA MARGATHO, RAFAEL OLIVEIRA FELICIO, LUCIANO FREITAS PALERMO-NETO, JOÃO; ZAGER, ADRIANO

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

Introdução e Objetivos: Achados crescentes indicam a existência de interações estabelecidas entre os sistemas imune e nervoso. De fato, o sistema dopaminérgico central pode modular a regulação dos receptores neurais de prolactina e da sua liberação e, por sua vez, a prolactina é um hormônio envolvido em muitas funções biológicas, que incluem a imunomodulação. O controle fisiológico da secreção de prolactina é principalmente inibitório e assenta-se na ativação dos receptores de dopamina D₂ na hipófise. Em contrapartida, o bloqueio desses receptores eleva os níveis séricos de prolactina. O presente projeto utilizará o modelo de injúria pulmonar aguda (IPA), uma forma grave de doença pulmonar, caracterizada por inflamação e injúria alvéolo-capilar com acúmulo de neutrófilos e liberação de citocinas pró-inflamatórias para investigar o efeito da prolactina em processos inflamatórios. Embora a ativação de neutrófilos seja vital para a defesa do hospedeiro, a sua ativação exagerada determina o dano tecidual decorrente da liberação de agentes citotóxicos e recrutamento de células do sistema imune. Serão avaliados os efeitos da hiperprolactinemia induzida por domperidona em um modelo murino de IPA, provocada por administração intranasal de lipopolissacarídeo (LPS). **Materiais e Métodos:** Serão utilizados camundongos C57BL/6J, machos, com peso de 20-25g e com 60 dias de vida; para indução de hiperprolactinemia, os animais (n=10 animais/grupo) serão tratados com veículo ou domperidona três vezes ao dia (6h30min, 14h, 21h) por cinco dias consecutivos; no sexto dia, os animais serão anestesiados (quetamina e xilazina) e submetidos à IPA por desafio com LPS (100 µg/mL, após diluição em PBS, no volume de 1 µL/g de peso dos animais). Após 24 ou 48 horas, os animais serão anestesiados com sobredose de quetamina e submetidos à coleta do lavado broncoalveolar (LBA), sangue e tecido pulmonar. O LBA será utilizado para dosagem de citocinas, contagem do número total e diferencial de células e determinação da concentração de proteínas totais. Aliquotas de sangue serão tomadas para contagem de células e quantificação de corticosterona e prolactina. A atividade geral no campo aberto e no labirinto em cruz elevado será analisada com o emprego do software Ethovision XT[®]. **Palavras-chave:** Hiperprolactinemia. Modelo Murino. Domperidona. Inflamação pulmonar aguda.

CARACTERIZAÇÕES MACROSCÓPICAS E MICROSCÓPICAS DA BRONQUIECTASIA EM ROTTWEILER

RODRIGUES, DANILO MARIN¹; TORRES, LUCIANA NEVES¹; CECARELLI, CARLA FRANCHITTO²; GOMES, RAQUEL GONÇALVES¹; LIMA, JOSÉ CESAR MENK PINTO¹; BISSON, THAÍS AMANDA¹; SILVA, FELYPE FANTI SABINO²; PINTO, ANA CAROLINA BRANDÃO DE CAMPOS FONSECA²; LORIGADOS, CARLA APARECIDA BATISTA²; MAIORKA, PAULO CÉSAR¹

¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: A bronquiectasia dos cães rottweiler já foi citada anteriormente, mas hoje é menos comum, provavelmente pela diminuição da popularidade desta raça; entretanto, é uma doença que carece de caracterizações e padronizações. **Relato de Caso:** Uma cadela, fêmea, com quatro anos de idade, da raça rottweiler foi encaminhada ao Hospital Veterinário (FMVZ-USP) apresentando tosse crônica, purulenta a sanguinolenta, hiporexia e êmese. Ao exame físico, foi constatada marcante crepitação pulmonar e dispneia. A radiografia revelou marcante evidênciação de brônquios e bronquíolos; em hemograma, leucocitose por neutrofilia. Foi instituído o tratamento de suporte com antibiótico, com melhora moderada, porém, após 2,5 meses optou-se pela eutanásia. Na necrópsia, foi observado: traqueia com grande quantidade de conteúdo espumoso amarelo-escuro e porção final e suas conexões com os brônquios com grande quantidade de conteúdo líquido a pastoso amarelado; lobos pulmonares de superfície irregular, coloração vermelho escura e rósea (macia), entremeadas a áreas multifocais róseo-amareladas (firme). Ao corte, foram observados brônquios marcadamente preenchidos por conteúdo pastoso castanho-escuro e friável; o parênquima drenava moderada quantidade de conteúdo líquido amarelado, e a sua coloração variava entre o vermelho e vermelho-escuro; o lobo cranial esquerdo apresentava uma área de expansão sacular de 8x6x6 cm, preenchida por ar e discreto material líquido a pastoso amarelado. Na análise microscópica, os bronquíolos apresentavam dilação moderada a marcante; em suas paredes havia infiltrado inflamatório predominantemente neutrofílico, necrose e fibroplasia associada, ocorrendo em diferentes graus ao longo dos fragmentos; o epitélio de revestimento apresentava alteração de conformação, tendendo a cuboide; o lúmen da maioria dos bronquíolos apresentava grande quantidade de exsudato fibrinoso, neutrófilos íntegros e degenerados, restos celulares e hemácias. O interstício apresentava infiltrado predominantemente neutrofílico, marcante e difuso; moderada quantidade de macrófagos contendo pigmento acastanhado. A parede alveolar apresentava moderada a marcante fibrose multifocal, ocorrendo fibrose intraluminal multifocal, grande quantidade de macrófagos, moderado edema e áreas multifocais de enfisema. A área correspondente à saculação apresentava-se revestida por epitélio colunar pseudoestratificado ciliado. **Discussão:** As alterações macroscópicas observadas foram compatíveis com bronquiectasia cilíndrica e sacular, além de pneumonia neutrofílica marcante, confirmando as suspeitas das análises clínicas e radiográficas. **Conclusão:** Em face à gravidade, intensidade das alterações e quadro clínico desfavorável, é de grande importância que sejam caracterizados outros casos semelhantes, para que possam ser ensaiados tratamentos que apresentem melhor prognóstico. **Palavras-chave:** Bronquiectasia. Rottweiler. Caracterização macroscópica. Caracterização microscópica.

AVALIAÇÃO DA ANSIEDADE EM RATOS SUBMETIDOS AO MODELO DE INDUÇÃO DO TRANSTORNO DO DÉFICIT DE ATENÇÃO (TDAH) POR ETANOL NA INFÂNCIA

FABIANA PEREIRASANTOS; THAISAMEIRASANDINI; MARIANASAYURI BERTO; EVERTON BARBOSA BERTAGLIA; HELENICE SOUZA SPINOSA Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

Introdução e Objetivo: O transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) é uma condição que pode ser caracterizada pela falta de atenção, impulsividade patológica e hiperatividade. Há diferentes modelos animais para o estudo do TDAH em ratos e camundongos, como, por exemplo, a exposição pós-natal ao etanol. Em camundongos foi demonstrado que a administração de 5 g/kg de etanol, pela via subcutânea, no 10º dia de vida pós-natal (DPN₁₀) foi capaz de induzir sintomas do TDAH. Tem sido observado que muitos portadores de TDAH também apresentam ansiedade. O presente trabalho investigou, a hipótese de que a administração de etanol no DPN₁₀ poderia acarretar alterações no índice de ansiedade avaliado em ratos submetidos ao labirinto em cruz elevado. **Material e Métodos:** Para indução de comportamentos típicos do TDAH, os ratos do grupo tratado (n=5) receberam, 5 g/kg de etanol pela via subcutânea no DPN 10, enquanto os do grupo controle (n=4) receberam solução de NaCl 0,9%, pela mesma via e volume (1 ml/kg), em duas injeções (2 x 2,5 g/kg), com intervalos de duas horas. No DPN₄₅, os animais foram submetidos ao teste labirinto em cruz elevado com a avaliação dos parâmetros: porcentagem de entrada nos braços abertos e fechados, porcentagem de tempo gasto nos braços abertos e fechados, *head dipping* e avaliação de risco. **Resultados e Discussão:** Não houve diferenças entre os grupos (p>0,05) em nenhum dos parâmetros analisados no labirinto em cruz elevado, indicando que os animais tratados não apresentaram os sinais de ansiedade. **Conclusão:** Nas condições adotadas no presente trabalho os ratos tratados com etanol não apresentaram alteração no índice de ansiedade, porém, novas investigações deverão ser realizadas com um maior número de indivíduos. **Palavras-chave:** Ratos. Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade. Etanol.

IDENTIFICAÇÃO POR MALDI-TOF MS (MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION IONIZATION-TIME OF FLIGHT MASS SPECTROMETRY) DE BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS EM IRERÊS (DENDROCYGNA VIDUATA) EM ROTA DE MIGRAÇÃO

FRANCO, L.S.; CUNHA, M.P.V.; OLIVEIRA, M.G.X.; MARCATTI, R; MORENO, L.Z.; CHRIST, A.P.G.; SATO, M.L.Z.; MORENO, A.M.; KNÖBL, T. Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

Introdução e Objetivos: AAs aves de vida livre podem carrear agentes zoonóticos de importância em saúde pública e os seus hábitos migratórios contribuem para dispersão de tais agentes. Os irerês (*Dendrocygna viduata*) são anatídeos encontrados na América do Sul, América Central e na África Ocidental. Esta espécie ocorre em todo território nacional e o estado de São Paulo é uma importante parte da rota migratória de vários grupos da espécie que desaparecem no período mais seco e retornam em épocas de cheias. Durante o período de migração para fora do Brasil, os grupos de irerês dividem o território e interagem com outras aves que realizam migrações intercontinentais; pouco se sabe sobre a microbiota dessas aves. O presente trabalho avaliou a microbiota oral e cloacal de 49 irerês capturados na cidade de São Paulo. **Materiais e Métodos:** No mês de agosto de 2015, foram coletados suabes de orofaringe e de cloaca de 49 irerês. As amostras foram cultivadas em ágar Sangue, ágar McConkey e caldo Tetrationato e ágar

XLT₄; após o isolamento, foi realizada a extração proteica e a mensuração do tempo de voo pela técnica de espectrometria de massa, MALDI-TOF MS **Resultados e Discussão:** Na orofaringe foram identificadas *Aeromonas veronii* em dez aves (27,02%), *Aeromonas jandaei* em 17 (45,97%) e *Aeromonas hydrophila* em quatro (10,81%); uma ave foi positiva para *Salmonella* spp. (2,70%). Nas amostras de cloaca, o maior percentual de isolamento foi *Escherichia coli* em 42 aves (79,24%), seguido por *Pleisiomonas shigelloides* (9,43%), *Escherichia albertii* (3,77%), *Acinetobacter radioresistens* (3,77%), *Escherichia fergusonii* (1,88%) e *Acinetobacter baylyi* (1,88%). Em uma segunda etapa, todas as amostras foram cultivadas em Agar Mcconkey com Ceftiofur 16 mg/L, para a avaliação da resistência à cefalosporina de terceira geração. Foram identificadas estirpes resistentes das espécies: *Pseudomonas fulva* (30%), *P. chlororaphis* (25%), *P. koreensis* (10%), *P. putida* (10%), *P. monteilii* (5%), *P. corrugata* (5%), *Achromobacter insolitus* (5%), *Rhizobium radiobacter* (5%) e *Ochrobactrum intermedium* (5%). **Conclusões:** A técnica de Maldit-TOF MS foi efetiva para a identificação de bactérias que não são comumente identificadas pelas técnicas bioquímicas tradicionais. A identificação de micro-organismos potencialmente patogênicos para a população humana como *Salmonella* spp., *E. coli*, *Aeromonas* spp. e *Pseudomonas* spp. e resistentes a antibióticos de última geração confirma a importância destas aves em termos de saúde pública. **Palavras-chave:** Bactérias gram-negativas. Aves. Microbiota. Cloaca. Irerês.

AVALIAÇÃO DE FUNDOS DE OLHOS DE GAVIÕES QUIRI-QUIRI (FALCO SPARVERIUS) POR TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓPTICA (OCT)

DÉBORA GALDINO PINTO¹; RICARDO AUGUSTO PECCORA¹; MARTA BRITO GUIMARÃES¹; LILIANE MILANELLO²; ANGÉLICA DE MENDONÇA VAZ SAFATLE¹; PAULO SÉRGIO DE MORAES BARROS¹

¹ Laboratório de Investigação de Oftalmologia Comparada, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, Brasil;

² Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, Brasil

¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: A visão é de extrema importância para a sobrevivência dos rapinantes, pois influencia as atividades de: caça, escolha de parceiro, disputa territorial e desvio de obstáculos. A boa acuidade visual dos rapinantes deve ser avaliada durante o exame físico e é decisória para a destinação e reabilitação de aves silvestres apreendidas no tráfico. Alterações na retina levam a prejuízos visuais que podem ser avaliados por fundoscopia, mas este exame apresenta limitações e atualmente pode ser realizada a tomografia de coerência óptica (OCT), exame que se mostra soberano e decisório nas avaliações in vivo das camadas retinianas. **Materiais e Métodos:** Foram avaliados os olhos de três gaviões Quiri-quiri (*Falco sparverius*), provenientes do Parque Ecológico do Tietê, encaminhados para o Laboratório de Investigação de Oftalmologia Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. As aves foram sedadas com aplicação intramuscular de midazolam (5mg/kg) e contidas manualmente durante o exame. A midríase foi induzida com a instilação tópica de rocurnônio (10mg/ml). A retina foi escaneada para a avaliação de suas camadas por meio do SD-OCT (Heidelberg Engineering Spectralis OCT; Heidelberg Engineering, CA, USA). **Resultados:** Imagens de alta resolução SD-OCT foram obtidas dos olhos dos Quiri-quiri. Cinco olhos de três aves apresentavam a retina anatomicamente intacta e um olho apresentou retina danificada. As lesões foram caracterizadas por afinamento, perda de estratificação e descolamento da retina. O animal que apresentava lesão ocular foi desconsiderado dos programas de soltura.

Conclusão: A OCT possibilitou a seleção de aves em condições de serem destinadas a reabilitação, diminuindo a chance da inserção, em programas de soltura, de animais com a acuidade visual prejudicada. **Palavras-chave:** Gaviões. Quiri-Quiri. Tomografia de coerência óptica.

PROJETO: DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA QUANTIFICAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA EM TUMORES CANINOS COM IMUNORREATIVIDADE EM CÉLULAS ISOLADAS

MACEDO, BRUNA MUTT VARGAS, THIAGO HENRIQUE MORONI STREFEZZI, RICARDO DE FRANCISCO

Laboratório de Oncologia Comparada e Translacional (LOCT), Departamento de Medicina Veterinária, FZEA-USP.

Av. Duque de Caxias Norte, 225, CEP 13635-900, Pirassununga, SP, Brasil.

E-mail: rstrefezzi@usp.br

Introdução e Objetivos: A inibição da morte celular por apoptose está incluída entre os fatores que contribuem para o desenvolvimento do câncer. Uma das principais vias para a ativação da apoptose é a intrínseca, que ativa uma cascata de caspases que por fim ativam a caspase 3, proteína que executa os eventos de morte celular. Em estudos anteriores, foi detectada e caracterizada a expressão da caspase 3 em mastocitomas cutâneos caninos. As marcações ocorreram em células isoladas em meio à massa tumoral e a quantificação das reações foi realizada de maneira semiquantitativa; porém, uma das principais críticas aos métodos de quantificação em imunistoquímica tem sido a avaliação subjetiva das reações, o que conduz a variações intra e interobservador. Dessa forma, o presente projeto foi delineado para detectar e quantificar a expressão imunistoquímica da caspase 3 em melanoma oral canino e para comparar diferentes metodologias de quantificação de imunistoquímica com vistas a eleição do melhor método aplicável a imunorreatividade em células isoladas. **Materiais e Métodos:** Amostras de melanoma oral canino serão processadas histologicamente e a melanina será removida pelo processo de *bleaching* e realizado o processamento imunistoquímico para detecção de caspase 3. As quantificações das reações serão realizadas por análise em escores, determinação da porcentagem de células marcadas extraídas de cinco campos *hot spots* por meio de análise de imagens, utilizando o software *Image ProPlus* (Media Cybernetics, EUA), escaneamento da lâmina à objetiva de 40x com contagem de células positivas e aplicação de graticula. Os resultados serão analisados com os testes de: correlação de Spearman e ANOVA para medidas repetidas, realizados com software *Graphpad Prism* (Versão 4.02 para Windows, GraphPad Software®). O resultado esperado será o estabelecimento de um método de imuno marcação de células isoladas para a detecção e quantificação da caspase 3 em melanoma oral canino. **Apoio Financeiro:** CNPq (Processo 153892/2015-3) **Palavras-chave:** Cães. Melanoma. Neoplasias bucais. Imunistoquímica. Caspase 3. Apoptose

HISTOPATOLOGIA COMPARADA DE MICOBACTERIOSE NA POPULAÇÃO DE RHINELLA JIMI ORIUNDA DO ARQUIPÉLAGO DE FERNANDO DE NORONHA

CANELI, LARISSA CRISTINNE. DE PAULA, CÁTIA DEJUSTE. PESSIER, ALLAN PATRICK. CATÃO-DIAS, JOSÉ LUIZ.

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

Introdução e objetivos: Uma população de anfíbios anuros (*Rhinella*

jimi) foi introduzida no arquipélago de Fernando de Noronha e sabe-se que alguns indivíduos são positivos para micobacterioses. O presente trabalho analisa e descreve comparativamente as alterações histopatológicas encontradas em animais infectados pelo *Mycobacterium* spp. **Material e Métodos:** Fragmentos de tecidos e órgãos de 20 indivíduos foram colhidos, fixados em formalina tamponada a 10%, e processados de acordo com as normas padrão de inclusão em parafina. Para cada bloco de material parafinado, foram confeccionadas duas lâminas, das quais uma foi corada pela técnica de hematoxilina-eosina e destinada à descrição histopatológica dos granulomas encontrados e a outra pela coloração especial de Fite-Faraco, utilizada para a visualização de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR). A ocorrência e as características dos granulomas, incluindo presença de BAARs, foram avaliadas e classificadas de acordo com critérios semiquantitativos. Todos os procedimentos adotados foram certificados pela CEUA/FMVZ/USP – protocolo 5191100615, e pelo ICMBio – processo SISBIO nº 39583-1, emitida em nome da Dra. Cátia Dejuste de Paula. **Resultados e Discussão:** Foram encontrados granulomas em diversos órgãos, e os mais acometidos foram fígado e baço. A descrição das lesões foi realizada com base na lâmina corada com HE. Dezesesseis animais apresentaram coloração de Fite-Faraco positiva (presença de BAAR) em, pelo menos, um órgão acometido por granulomas. **Conclusões:** A alta ocorrência de animais positivos para *Mycobacterium* spp. ratifica a importância desta infecção para a sanidade desta população de anfíbios, em especial no que se refere à elevada incidência de malformações observada nestes animais. A descrição das lesões confirmou os relatos prévios que evidenciaram diferenças morfológicas nos granulomas de anuros quando comparados aos observados nas classes de vertebrados endotérmicos (aves e mamíferos). **Palavras-chave:** Micobacteriose. Anuros. Arquipélago de Fernando de Noronha.

INFLUÊNCIA DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA CRIAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE RATOS WISTAR

MARTINELLI, ELAINE CRISTINA LANZONI; GOTARDO, ANDRÉ TADEU; RASPANTI, LEONILA ESTÉR REINERT; RASPANTINI, PAULO CÉSAR FABRÍCIO; BALADORE, ADILSON; GORNIAC, SILVANA LIMA; MORI, CLAUDIA MADALENA CABRERA

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

Introdução e Objetivos: Melhorar as condições de alojamento, tornando o ambiente mais complexo e próximo do natural e permitir com isso que os animais expressem os seus comportamentos específicos é a proposta do enriquecimento ambiental (EA). Pesquisas que fazem uso de EA têm apontado efeitos benéficos tanto para os animais quanto para os resultados experimentais. De fato, promovendo a redução dos níveis de estresse e o aumento do bem estar, o EA contribui para a maior confiabilidade e reprodutibilidade dos resultados das investigações experimentais. O presente trabalho avaliou os possíveis benefícios do EA no desempenho reprodutivo, desenvolvimento dos filhotes e qualidade do ninho de ratos Wistar. **Material e Métodos:** Foram utilizados 30 casais de ratos Wistar do Biotério de Roedores do CEPTOX/FMVZ/USP, divididos em três grupos: EA-M (cama de maravalha); EA-S (cama de sabugo de milho) e NE (não enriquecido com cama de maravalha), alojados em gaiolas abertas de polipropileno, mantidas em estantes ventiladas em sala climatizada. O EA foi realizado com o emprego de papel craft, rolos de papelão e tubos de PVC. As ratas foram pesadas semanalmente durante o período de reprodução. Após o parto foi registrada a média de peso total da prole, com padronização para oito filhotes por ninhada. A pesagem individual dos filhotes foi efetuada

semanalmente até o desmame. A comparação do desenvolvimento físico da prole dos grupos EA-M e NE considerou os parâmetros: descolamento da orelha, erupção dos dentes incisivos, aparecimento de pelos, abertura da orelha, abertura dos olhos, descida dos testículos e abertura vaginal. Também foram atribuídos escores para a observação de parâmetros relacionados à integridade e qualidade do ninho. **Resultados e Discussão:** O desempenho reprodutivo, os intervalos entre partos, número de filhotes nascidos e desmamados foram semelhantes nos três grupos. Embora tenha sido constatada diferença significativa com maior peso dos filhotes do grupo EA-S nos dias 2, 14 e 21, isso não representou importância biológica, pois o peso variou dentro da faixa normal esperada para a idade. As ratas alojadas em ambiente enriquecido construíram ninhos mais íntegros e de melhor qualidade quando comparadas as do grupo NE. O desenvolvimento dos filhotes de todos os grupos foi compatível com os valores descritos para ratos Wistar. **Conclusão:** O EA não influenciou o desempenho reprodutivo nem o desenvolvimento da prole de ratos Wistar; no entanto, houve uma tendência dos casais mantidos com EA apresentarem melhor qualidade do ninho em relação ao grupo não enriquecido. Essas observações reforçam a importância do fornecimento do material de ninho, para que, as mães criem seu próprio microambiente e possam oferecer melhor conforto e bem estar aos seus filhotes. CEUA/FMVZ nº 1032270415 **Palavras-chave:** Ratos Wistar. Enriquecimento ambiental. Desempenho reprodutivo.

OCORRÊNCIA DE AFECÇÕES EM PICHARROS (SALTATOR SIMILIS) ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO DE AVES DA FMVZ/USP NO PERÍODO ENTRE 2009 E 2015

CASTRO, VITOR; FERREIRA, ANTONIO JOSÉ PIANTINO;

GUIMARÃES, MARTA BRITO

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

Introdução: Devido a sua capacidade de canto, o picharro (*Saltator similis*), a segunda espécie mais apreendida no tráfico no Brasil, é um dos pássaros mais desejados pelos criadores. Com o objetivo de regulamentar a criação desta espécie em cativeiro, o IBAMA criou a categoria do criador amadorista, que pode criar e trocar os indivíduos entre si. Contudo, esta prática pode ser um fator predisponente para a disseminação de doenças, que deve ser considerada pelo médico veterinário. **Materiais e métodos:** Foi realizado um levantamento dos casos atendidos no Ambulatório de Aves da FMVZ/USP, no período de janeiro/2009 a setembro/2015. **Resultados e Discussão:** Foram atendidos 103 picharros, dentre eles, quatro fêmeas. A doença mais frequente foi a siringite 33/103 (32%), caracterizada pela rouquidão parcial ou total da ave durante o canto. Em passeriformes, as bactérias comumente envolvidas neste quadro são *Mycobacterium avium*, *Pasteurella* sp., *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp., *B. avium*, *B. bronchiseptica* e *Mycoplasma* sp., além de fungos como o *Aspergillus* sp. que podem determinar oclusão parcial ou total do lúmen traqueal associada à mudança ou perda da vocalização, progredindo para dispneia e óbito. Em segundo lugar, os traumatismos 17/103 (16%) foram evidentes pelas fraturas principalmente em membros pélvicos decorrentes de acidentes com a gaiola ou ataque por cães, gatos e aves predadoras; antes da abordagem terapêutica das fraturas, foi realizada a estabilização clínica do paciente e quando possível, o encaminhamento para exame radiográfico para a definição da fratura e realização de bandagem externa para a coaptação do osso fraturado. A terceira colocação foi ocupada pelas afecções oculares 10/103 (10%), incluindo uveítes, úlceras de córnea e cataratas, resultantes de processos infecciosos pontuais, podendo estar associados a quadros sistêmicos ou não; é provável

que as cataratas estejam relacionadas à idade, porém, esta informação ainda permanece desconhecida. As demais ocorrências 43/103 (42%) incluíram doenças do sistema digestório, respiratório, urinário, nervoso e indeterminados. Devido a origem do animal ser desconhecida e pela ave ser de vida livre e transitar entre os criadouros, o tempo de vida e as informações de doenças e tratamentos anteriores não são confiáveis. **Conclusão:** O conhecimento das principais afecções que acometem o picharro (*Saltator similis*) é de grande utilidade para que o médico veterinário possa direcionar a sua conduta clínica, efetuar o diagnóstico, prognóstico e tratamento adequados para os animais desta espécie e também para intensificar e promover as orientações sobre as práticas de manejo e prevenção das doenças mais prevalentes. **Palavras-chave:** Aves. Picharros. Criação de aves.

PROJETO: EFEITOS COMPORTAMENTAIS DO TIPO-DEPRESSIVO NA VIDA ADULTA DE UM ESTRESSE SOCIAL EM CAMUNDONGOS JOVENS

MORAIS, CRISTIANE; LIMA, ANA PAULA; MASSOCO, CRISTINA

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP).

E-mail: cmorais@usp.br

Introdução: A Organização Mundial da Saúde (OMS) refere que anualmente 800 mil pessoas cometem o suicídio. O Brasil é atualmente o oitavo país do mundo com o maior número de suicídios; depois dos idosos, os adolescentes são os que mais morrem por esta razão. A depressão é o principal motivo para que um indivíduo atente contra a própria vida. Eventos traumáticos e estressantes registrados na adolescência estão associados a inúmeras alterações no desenvolvimento dos sistemas nervoso e endócrino e predisõem a instalação de psicopatologias que incluem a depressão e os transtornos de ansiedade. Diante disso, o presente projeto foi delineado para investigar os efeitos comportamentais do tipo-depressivo na vida adulta de um estresse determinado por instabilidade social em camundongos jovens. **Material e Métodos:** Serão utilizados camundongos Balb/c machos submetidos a um modelo de estresse por instabilidade social durante 21 dias. A condição estressante consistirá na utilização de pares de camundongos que são removidos de suas gaiolas e que ficam isolados por um período de uma hora. Após uma hora, os animais serão alocados em novas gaiolas com novos parceiros que também estarão sendo submetidos ao estresse. Após o último dia de estresse, os animais serão alocados em gaiolas com seus parceiros originais. Durante todo o protocolo de estresse, os animais do grupo controle (C) serão mantidos em suas gaiolas sem qualquer tipo de manipulação, recebendo apenas os cuidados básicos de manutenção. A partir dos 60 dias de vida, os animais serão avaliados quanto ao comportamento por meio do teste de suspensão da cauda e, em seguida, serão coletadas estruturas cerebrais para avaliação neuroquímica e plasma sanguíneo para avaliação hormonal. **Apoio financeiro:** CAPES **Palavras-chave:** Depressão. Camundongos. Comportamento.

ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO DA EXPRESSÃO DE HIF1-α EM MASTOCITOMAS CUTÂNEOS CANINOS

CAMPOS, ISABELA ESTEVES; BARRA, CAMILA NERI; PULZ, LIDIA HILDEBRAND; STREFEZZI, RICARDO DE FRANCISCO

Laboratório de Oncologia Comparada e Translacional (LOCT), Departamento de Medicina Veterinária, FZEA-USP.

Av. Duque de Caxias Norte, 225, CEP 13635-900, Pirassununga, SP, Brasil.

E-mail: rstrefezzi@usp.br

Introdução e Objetivos: Os mastocitomas cutâneos em cães caracterizam-se pela malignidade e o alto poder metastático. A hipóxia tumoral é um evento frequente em neoplasias malignas que pode alterar o microambiente por meio de modificações na expressão gênica. Para contornar a baixa oxigenação celular, este conjunto de modificações poderá piorar ou melhorar o prognóstico da neoplasia. Este fator de transcrição interage com a sequência de DNA HRE (Elementos de Resposta à Hipóxia), codifica inúmeros genes envolvidos com a angiogênese e pode ser o responsável pelo estabelecimento de uma nova vasculatura na massa tumoral. As capacidades metastática e tecidual também são potencializadas pelo HIF1- α , que tem sido relacionado com a malignidade tumoral. No presente trabalho, foi avaliada a presença de HIF1- α em mastocitomas de cães utilizando a técnica de imunistoquímica, a fim de verificar se o mesmo seria um bom indicador prognóstico da neoplasia. **Material e Métodos:** Foram processadas histologicamente amostras de mastocitomas cutâneos de 24 animais. Os registros disponíveis ofereceram informações individuais sobre histórico clínico, tempo de sobrevida pós-cirúrgico, tratamento, eventual óbito e causa da morte. Os cortes histológicos foram corados para diagnóstico e graduação, seguindo os métodos de classificação de mastocitomas. As amostras foram submetidas ao procedimento imunistoquímico para HIF1- α e os casos positivos foram identificados e quantificados. Os resultados foram comparados aos diferentes graus histopatológicos, à mortalidade em função do tumor e à sobrevida, com níveis de significância de 5%. **Resultados e Discussão:** Não foram constatadas diferenças na expressão de HIF1- α entre os graus histopatológicos ($p=0,1905$). A expressão de HIF1- α também não se apresentou como indicador preciso para sobrevida ($p=0,0936$) e mortalidades relacionadas ou não ao mastocitoma cutâneo canino ($p=0,2906$). Os resultados obtidos indicaram que a expressão de HIF1- α não apresenta valor prognóstico para mastocitoma cutâneo canino. **Conclusões:** Apesar do HIF1- α não ter sido um bom indicador prognóstico, os animais cujos tumores apresentam imunomarcagem nuclear (HIF1- α positivos) tendem a apresentar menor sobrevida em relação aos animais cujos tumores só apresentem marcação citoplasmática ou que são negativos para HIF1- α . **Apoio financeiro:** FAPESP (processos: 2013/13252-8 e 2014/06129-8). **Palavras-chave:** Cães. Mastocitoma cutâneo. HIF1- α . Imunistoquímica.

ESTUDO RETROSPECTIVO (2011-2015) DOS EXAMES CITOLÓGICOS EM MEDICINA AVIÁRIA

CAMARGO, BEATRIZ QUEVEDO; GUIMARÃES, MARTA BRITO; TORRES, LUCIANA NEVES; FERREIRA, ANTONIO JOSÉ PIANTINO; MOMO, CLÁUDIA.

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

Introdução: O exame citológico é um procedimento de diagnóstico rápido, prático e de baixo custo, acessível a qualquer médico veterinário; o presente trabalho relata os diagnósticos citológicos estabelecidos em aves atendidas no Ambulatório de Aves da FMVZ/USP no período de 2011 a 2015. **Material e Métodos:** Foi realizado um levantamento retrospectivo dos exames citológicos de amostras biológicas coletadas de aves e analisadas pelo Serviço de Patologia Animal entre 2011 e 2015. **Resultados e Discussão:** Dos 39 exames citológicos efetuados, 84,61% foram de Psittaciformes: papagaios (*Amazona aestiva*) (35,89% - 14/39), calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) (20,51% - 08/39) e periquitos (*Melopsittacus undulatus*) (15,38% - 06/39). A ocorrência de neoplasias foi de 35,89% (14/39), a qual se relaciona à longevidade, obesidade, fatores genéticos, ambientais e presença de micotoxinas nos alimentos. O lipoma, um dos mais frequentes, é um tumor benigno oriundo

de adipócitos diferenciados, que formam massas subcutâneas, ocorrendo particularmente em periquitos, caturus e papagaios; a sua ocorrência está relacionada a dieta à base de sementes de girassol, cuja composição gordurosa induz ao seu acúmulo deletério ao organismo da ave. O segundo diagnóstico mais frequente foi a presença de efusão não inflamatória e inflamatória na cavidade celomática (15,38% - 6/39), séptica ou asséptica, cujas possíveis causas são a peritonite séptica e a peritonite por ovo ectópico; os sinais clínicos resultantes do acúmulo de líquido são a distensão abdominal e a compressão de sacos aéreos, levando à dispnéia. O terceiro diagnóstico mais encontrado foram os cistos córneos e de penas (10,25% - 4/39), descritos principalmente em periquitos e facilmente confundidos com as neoplasias, acredita-se que esta condição seja genética e hereditária. Os demais resultados (38,46% - 15/39) foram diversificados, inclusive entre espécies aviárias. **Conclusões:** O exame citológico foi um importante instrumento de diagnóstico que deve ser considerado essencial para a clínica de aves, pois a sua praticidade e agilidade norteiam o clínico para o tratamento do animal. **Palavras-chave:** Aves. Exame citológico. Saúde animal.

ESTRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO EM RATOS INDUZIDO POR ADMINISTRAÇÃO DIÁRIA DE CETAMINA

TELES, JESSICA DE LIMA ALVES, REBECA BUENO SELLANI, TARCISO ALMEIDA PEREIRA, DEBORA CRISTINA FEITOSA SIMON, KARIN ARGENTI

Introdução: A cetamina introduzida no mercado como anestésico, sedativo, analgésico e amnésico é um anestésico dissociativo muito usado na medicina veterinária que vem sendo estudado como um possível agente indutor para um modelo de esquizofrenia. Na atualidade, há relatos de que esta substância vem sendo usada como droga de abuso devido a sua capacidade de provocar alucinações. Entre os efeitos colaterais do uso de cetamina, destaca-se o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, que podem causar danos ao fígado. No presente trabalho foi analisado o estresse oxidativo hepático causado pela administração subcrônica de cetamina. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados 32 ratos da linhagem Wistar, machos, com cinco meses de idade e cerca de 380 gramas. Os animais do grupo tratado receberam diariamente via intraperitoneal uma dose de 15 mg de cetamina por kg de peso do animal. Os animais do grupo controle receberam o volume equivalente em solução salina 0,9%. Os animais foram pesados a cada três dias para cálculo da dose utilizada e verificação de possíveis alterações de peso; o consumo de água e ração foi controlado a cada três dias. Ao completarem 3, 7, 14, 21 e 28 dias, seis animais foram sacrificados e tiveram o fígado retirado após perfusão com solução salina 0,9% para as análises da glutatona total e oxidada e de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SRAT). **Resultados e Discussão:** Após sete dias de tratamento, houve um aumento significativo de SRAT evidenciando o aumento do estresse oxidativo, porém, após 14 dias de tratamento, a quantidade dessas substâncias diminuiu e voltou a valores próximos aos do grupo controle por volta de 28 dias; o mesmo ocorreu com a quantidade de glutatona total e oxidada, no entanto, o aumento só ocorreu após 14 dias e diminuiu depois de 21 dias de administração de cetamina. **Conclusão:** A utilização da cetamina de maneira subcrônica causa um impacto inicial no organismo aumentando espécies reativas de oxigênio e as defesas antioxidantes do organismo procuram reverter o processo voltando ao estado inicial após um certo tempo; outras enzimas envolvidas na defesa antioxidante do organismo tais como a glutatona peroxidase, glutatona redutase, G6PD, superóxido dismutase e catalase deverão ser investigadas. **Palavras-chave:** Estresse oxidativo. Ratos. Cetamina.

PROJETO: UTILIZAÇÃO DOS ANTICORPOS GFAP E VIMENTINA COMO MARCADORES DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL POR MEIO DA IMUNISTOQUÍMICA
PORDEUS, DÂMARIS CUEVAS, SILVIA SIQUEIRA, ADRIANA DE; MAIORKA, PAULO CÉSAR
1Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução e Objetivos: A Proteína Glial Fibrilar Ácida (GFAP) é uma subunidade dos filamentos intermediários de células gliais, como os astrócitos, e do epêndima (componente que reveste o encéfalo) e está em processos funcionais da célula (movimento, comunicação), sendo o principal componente estrutural astrócitário de animais adultos. A vimentina é uma proteína embrionária que faz parte dos filamentos intermediários de células mesenquimais (importantes na regeneração tecidual), estando presente também nos astrócitos e que se perde com o desenvolvimento celular. A marcação proteica com anticorpos pode ser um instrumento de avaliação da perda da integridade dessas células devido a inflamações fisiológica e patológica, traumas e envelhecimento. O presente trabalho é uma revisão bibliográfica da expressão dos anticorpos GFAP e vimentina em lesões cerebrais. **Material e Métodos:** Casuística do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, um grupo de animais com lesão de sistema nervoso central e um grupo-controle. Na necropsia, o encéfalo será colhido, fixado em formol, cortado craniocaudalmente em seis partes, processado e corado com hematoxilina-eosina. Para a imunistoquímica, serão efetuados banhos para desparafinar as lâminas, depois recuperação antigênica com tampão citrato, bloqueio das reações inespecíficas com PBS e leite desnatado e incubação com os anticorpos GFAP e vimentina. A seguir as lâminas serão incubadas com os anticorpos secundários (amarelo, vermelho e cromógeno) e será realizado um banho para desidratar as lâminas para a leitura. As análises dos resultados serão efetuadas com o software Prism. **Relevância:** Os astrócitos são componentes da macróglia e respondem a agentes agressores, liberando citocinas pró ou antiinflamatórias, proliferando-se e hipertrofiando-se, causando aumento na quantidade de filamentos intermediários. O anticorpo GFAP é largamente utilizado para localizar astrócitos alterados, verificando astrocitose e astrogliose. A vimentina se reexpressa quando há lesões no tecido, assim, o anticorpo vimentina poderá localizar possíveis proliferações e hipertrofias astrocíticas, que comprometem a sustentação e a nutrição dos neurônios da região, bem como a quantidade e distribuição de células mesenquimais. A GFAP tem maior expressão em torno da lesão, mas também se expressa a distância da lesão e cria um gradiente, já a vimentina se evidencia apenas nas bordas da lesão. **Conclusões:** A utilização dos anticorpos GFAP e vimentina constitui um importante instrumento para o estudo de agressões ao tecido nervoso, nas quais se observa maior intensidade de marcação da GFAP e reexpressão da vimentina, quando é efetuada a comparação com marcações realizadas em animais saudáveis. **Palavras-chave:** Proteína Glial Fibrilar Ácida. Vimentina. Lesão cerebral.

APRESENTAÇÕES DE PÔSTER - CATEGORIA MESTRADO

PROJETO EM ANDAMENTO - AVALIAÇÃO MUTACIONAL DOS ÉXONS 8, 9 E 11 DO GENE C-KIT EM MASTOCITOMAS CANINOS: CORRELAÇÃO COM ASPECTOS CLÍNICOS E HISTOPATOLÓGICO

FREYTAG, JENNIFER OSTRAND¹; COGLIATI, BRUNO¹; GUERRA, JULIANA MARIOTTI¹; SILVA, TEREZA CRISTINA DA¹

¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: A prevalência das neoplasias entre os animais de estimação tem aumentado consideravelmente. O mastocitoma representa de 7 a 21% das neoplasias cutâneas observadas em cães. A graduação histológica do tumor, de grande importância para o prognóstico e diretamente relacionada ao tempo de sobrevida dos animais, é baseada na diferenciação celular. Um refinamento da avaliação do comportamento e prognóstico dessa neoplasia é atualmente realizado por meio da avaliação imunistoquímica dos marcadores Ki67 e KIT. O c-KIT é o gene que codifica o receptor de tirosina quinase KIT e é um importante alvo terapêutico, pois o desenvolvimento tumoral pode estar associado a desregulação dessas proteínas. O presente trabalho foi delineado para avaliar a presença de mutações nos exons 8, 9 e 11 do gene c-KIT e a expressão dos principais receptores de tirosina quinase; VEGFR, EGFR, PDGFR- β e KIT e correlacionar os resultados obtidos com os aspectos clínicos e histopatológicos. **Material e métodos:** O trabalho está sendo realizado com blocos de parafina de 65 amostras de tumores com diagnóstico de mastocitoma cutâneo. As amostras estão sendo submetidas às reações de imunistoquímica e imunofluorescência para avaliação da expressão dos principais receptores de tirosina quinase e o marcador de proliferação Ki-67. Foi realizado o processo de padronização para os receptores EGFR, VEGFR1(Flt1), VEGFR2(Flk1), VEGFR2(Flt4) que serão avaliados por meio da imunofluorescência e para os receptores PDGFR- β , KIT, Ki67 e VEGF por meio da imunistoquímica. Foram incluídos fragmentos de 25 tumores coletados no momento cirúrgico, com diagnóstico de mastocitoma cutâneo e que foram acondicionados em solução de RNAlater para preservação do material genético e congelados em freezer -80°C para a extração e quantificação de DNA seguida da reação em cadeia da Polimerase (PCR) para a amplificação dos exons 8, 9 e 11 do gene c-KIT e posteriormente será realizado o sequenciamento para verificar a presença de mutações nos exons. **Relevância:** A alta incidência do mastocitoma cutâneo canino e a dificuldade encontrada para o estabelecimento do seu controle tem fomentado a busca de novas alternativas terapêuticas. O melhor entendimento das alterações apresentadas nos mastocitomas é fundamental para a compreensão do seu comportamento e para a busca de novos alvos terapêuticos em função do seu envolvimento com a diferenciação, proliferação celular e transdução de sinais. As proteínas tirosina quinases parecem ser importantes alvos terapêuticos, pois, por mutação gênica, o desenvolvimento tumoral pode estar associado a desregulação de proteínas que promovem a superexpressão ou o comprometimento dos inibidores endógenos. **Palavras-chave:** Éxons. Cães. Mastocitoma.

EFEITOS DO TRATAMENTO AGUDO COM AGONISTA OPIOIDÉRGICO NA MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO DO RECEPTOR OPIOIDE TIPO DELTA EM DIFERENTES REGIÕES DO ENCÉFALO DE RATAS VIRGENS: PAPEL DOS HORMÔNIOS ESTERÓIDES

CEZAR, LUANA C.1; CRUZ, W. S.1; PEREIRA, L. A.1; CAMARINI, R.2; FELICIO, LUCIANO1; BERNARDI, MARIA MARTHA3; TEODOROV, ELIZABETH4

1. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo
2. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo
3. Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Paulista, UNIP
4. Centro de Matemática, Computação e Cognição, Universidade Federal do ABC

Introdução: O ciclo estral é bem conhecido em roedores, sendo composto por 4-5 dias e caracterizado pelas fases de proestro, estro, metaestro e diestro. A regulação da secreção das gonadotrofinas hipofisárias é resultado de uma interrelação complexa entre efeitos de *feedbacks* dos esteroides gonadais e a influência exercida por neurotransmissores cerebrais no eixo hipotálamo-hipófise. O papel central neste fenômeno é desempenhado pelos opióides cerebrais, que particularmente exercem uma influência inibitória na secreção de gonadotrofinas. É conhecido que diferentes classes de opióides cerebrais (como betaencefalinas, encefalinas, dinorfina) exercem suas ações por meio da ligação específica a receptores de membrana, sendo os mais conhecidos denominados mu, kappa e delta. Os receptores do tipo mu e kappa são os mais bem estudados e parecem estar associados ao controle da secreção de gonadotrofinas. A real participação do receptor opióide tipo delta nesse contexto ainda é pouco conhecida. Para tanto foi realizada a avaliação da expressão genica de Oprd1 que codifica o receptor opióide do tipo delta em diferentes regiões do encéfalo de ratas adultas ovariectomizadas tratadas prolongadamente ou agudamente com morfina e hormônios esteroides. **Material e Métodos:** Foram utilizadas ratas Wistar virgens adultas, com aproximadamente 90 dias de idade e 200 g de peso corporal. A solução salina a 0,9% (até 1 ml/kg) ou cloridrato de morfina (3,5 mg/kg) foram administrados em uma única dose para os grupos agudos e em seis injeções diárias para os grupos prolongados. Assim, foram formados aleatoriamente os grupos S (tratado com salina) e M (tratado com morfina). Para controle também foi montado um grupo branco, no qual os animais não passaram por nenhum procedimento experimental antes da coleta dos encéfalos para as avaliações moleculares. Em uma segunda etapa as ratas foram ovariectomizadas e também tratadas com hormônios femininos E2 (estrógeno) e P (progesterona). Em seguida decapitadas para coleta dos encéfalos. De posse das regiões encefálicas de interesse (estriado, hipotálamo e PAG), as amostras foram utilizadas para os ensaios de transcrição reversa para obtenção do cDNA e avaliações de expressão gênica por Real Time RT-PCR. **Resultados:** Os resultados mostraram que no estriado, hipotálamo e PAG os tratamentos farmacológicos/hormonais promoveram aumento da expressão de Oprd1. A administração de estrógeno alterou o padrão de expressão de Oprd1. Foi demonstrado também que, os mesmos grupos tratados com morfina+ progesterona aumentaram a expressão deste gene. Quando ratas ovariectomizadas foram tratadas com esteroides os resultados demonstraram aumento na expressão de Oprd1 nos grupos estrógeno, salina+ estrógeno, estrógeno + progesterona. **Conclusão:** O tratamento com agonista opioidérgico não foi capaz de promover o aumento da expressão do gene Oprd1, porém, os hormônios esteroides mostraram interação na atividade do receptor opióide tipo delta, aumentando a expressão de seu gene, quando ratas foram ovariectomizadas e tratadas com estrógeno, progesterona + estrógeno e salina + estrógeno. **Palavras-chave:** Receptores delta opióides. Ratos Wistar. Encéfalo.

PROJETO EM ANDAMENTO: AÇÃO TERAPÊUTICA DA RAIZ DE BARDANA (*ARCTIUM LAPPA L.*) NA ESTEATOHEPATITE NÃO ALCOÓLICA E FIBROSE EXPERIMENTAL EM RATOS: ENFOQUE NO METABOLISMO LIPÍDICO, ESTRESSE OXIDATIVO E FIBROGÊNESE HEPÁTICA

ARAÚJO, CINTIA1; ANJOS, ELIZANGELA1; SILVA, TEREZA1; TIBURCIO, TAYNÁ1; VELOSO, ISABEL1; COGLIATI, BRUNO1

1. Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP).

Introdução e Objetivo: A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) está relacionada à obesidade e pode evoluir de esteatose para esteatohepatite (ENA), fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular. A esteatose e o estresse oxidativo são considerados os principais fatores de risco na progressão da fibrose na ENA. Os extratos provenientes da raiz de Bardana (*Arctium lappa L.*) apresentam ação antioxidante em animais submetidos ao modelo de ingestão crônica de etanol ou hepatites medicamentosas. Porém, seus efeitos na ENA ainda não foram estudados, assim como os mecanismos moleculares presentes em sua ação terapêutica. Dessa maneira, o presente trabalho foi delineado para avaliar os efeitos terapêuticos da raiz de Bardana na ENA e fibrose induzida em ratos. **Material e Métodos:** Para avaliação dos efeitos terapêuticos da planta, os animais foram submetidos ao modelo de ENA+fibrose e tratados com o extrato etanólico da raiz de Bardana, durante 15 dias consecutivos, via gavagem. Os animais estavam separados em cinco grupos experimentais: 1) Grupo Controle (n=9); 2) 50 mg/kg (n=9); 3) 100 mg/kg (n=9); 4) 200 mg/kg (n=9); 5) Grupo Saudável (n=4). Vinte e quatro horas após o término dos respectivos tratamentos os animais foram eutanasiados com o emprego de procedimentos aprovados pela Comissão de Bioética da FMVZ/USP. O sangue foi coletado para análises bioquímicas (AST, ALT, glicose, colesterol e triglicérides) e os animais, assim como o fígado e as gorduras retroperitoneal e epididimal foram pesados. Amostras do fígado foram fixadas e processadas para análise histopatológica (HE e picrossírius) e imunistoquímica (PCNA, Caspase-3 e α -SMA). Amostras de tecido destinaram-se à avaliação da peroxidação lipídica e atividade de enzimas antioxidantes (SOD, catalase, GR e GPx). **Resultados:** Não foram observadas diferenças entre os índices biométricos dos grupos de animais avaliados durante a eutanásia Os índices semi-quantitativos obtidos com a histopatologia hepática de acordo com Kleiner et al. (2005) não apresentaram diferenças significativas, o mesmo ocorrendo em relação ao colágeno hepático, onde também não foi constatada diferença entre os grupos DMSO (19,94±3,36), 50mg (16,84±2,66), 100mg (17,71±3,69) e 200mg (18,95±5,09). Perante os resultados semelhantes em relação às análises bioquímicas séricas, peroxidação lipídica e atividades das enzimas participantes do metabolismo oxidativo, análises adicionais estão sendo efetuadas para avaliar o potencial preventivo da bardana no que se refere às lesões pré-neoplásicas (imunistoquímica para GSTP e PCR para os genes LYVE 1, survivina, glypican 3). **Conclusões parciais:** Os resultados disponíveis até o momento sugerem que a raiz da bardana não altera o quadro de ENA e fibrose dos animais, no entanto, as análises em andamento, trazem indícios da existência de um papel preventivo na hepatocarcinogênese. **Apoio Financeiro:** CAPES. **Palavras-chave:** *Arctium*. Raiz de bardana. Terapêutica. Esteato-Hepatite não Alcoólica. Ratos.

CARACTERIZAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE PULMÕES DE RATOS WISTAR (*RATTUS NORVEGICUS*) NAS DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS

PAIVA, VERA LISA GENEROSA DA SILVA1; SOUZA, ALEX JUNIOR SOUZA DE1; NARANJO, LUIS FABIAN NÚÑEZ1; PARRA, SILVANA HIPATIA SANTANDER1; FERREIRA, CLAUDETE SERRANO ASTOLFI1; FERREIRA, ANTONIO JOSÉ PIANTINO1; MASSIRONI, SILVIA MARIA GOMES2; MORI, CLAUDIA MADALENA CABRERA1; SÁ, LILIAN ROSE MARQUES DE1

- 1Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

- 2Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Introdução e Objetivos: Os ratos (*Rattus norvegicus*) são os roedores mais usados em pesquisas biomédicas. Para que os resultados obtidos nos experimentos sejam corretos, precisos e reproduzíveis é imprescindível que a condição sanitária dos animais seja objeto de cuidados especiais. O *Mycoplasma pulmonis*, causador da micoplasmose respiratória murina (MRM), é um dos agentes potencialmente causadores de interferências nos resultados de investigações experimentais. O presente trabalho foi delineado para efetuar a caracterização histopatológica dos pulmões de ratos Wistar nas várias faixas etárias, assim como a detecção de *Mycoplasma spp.* com o emprego das técnicas de ELISA e moleculares. **Material e Métodos:** Foram utilizados 53 ratos Wistar machos retirados aleatoriamente do Biotério convencional do Departamento de Patologia da FMVZ/USP: oito animais com quatro semanas de idade e 15 animais com oito, 12 semanas e 12-18 meses de idade. A eutanásia dos animais foi realizada em câmara de CO2 e, posteriormente, foi realizada a necropsia e a avaliação histopatológica dos seus pulmões. Amostras de sangue foram coletadas para sorologia (ELISA) em 20 animais (10 machos e 10 fêmeas com 12 semanas de idade) e amostras de pulmão para isolamento e identificação molecular de *Mycoplasma spp.* em 25 amostras (cinco machos com 12 semanas e 10 animais por sexo com 12-18 meses de idade). Posteriormente, se procedeu ao sequenciamento do DNA amplificado para determinação da espécie de *Mycoplasma spp.* **Resultados:** Dos pulmões pesquisados, 72% (18/25) apresentaram positividade para detecção de *Mycoplasma spp.* por PCR convencional, porém, após sequenciamento foi constatado que apresentava 99% de similaridade com *M. pulmonis*. No ELISA, 100%(20/20) de amostras apresentaram resultado positivo para anticorpos anti *M. pulmonis*. Quanto ao histopatológico, foi constatado que os animais com quatro semanas não apresentaram lesões; os animais com oito semanas de idade apresentaram hiperplasia de BALT com bronquiectasia e rutura bronquiolar 6,67% (1/15); nos 15 animais com 12 semanas de idade foi constatado hiperplasia de BALT variando de discreta a moderada em 46,7% (7/15), presença de bronquiolite em 53% (8/15), dos quais 26,7% apresentaram bronquiolite discreta, 13,3% (2/15) bronquiolite erosiva e 13,3% (2/15) bronquiolite purulenta, 26,7% (4/15) dos animais apresentaram pneumonia, variando de intersticial linfoplasmocítica em 20% (3/15) a purulenta em 6,67% (1/15); nos animais com 12 a 18 meses de idade se observou hiperplasia de BALT moderada a marcante em 100% (15/15) dos animais, broncopneumonia em 100% (15/15) entre os quais 80% (12/15) apresentaram broncopneumonia purulenta, 13,3% (3/15) broncopneumonia erosiva e 6,67% (1/15) discreta broncopneumonia. **Conclusões:** A elevada prevalência de *M. pulmonis* nos ratos concomitantemente com as lesões pulmonares descritas nas diferentes faixas etárias utilizadas em estudos experimentais, devem ser levadas em conta na interpretação de resultados obtidos. **Apoio Financeiro:** CNPq 155809/2014-8 **Palavras-chave:** Ratos Wistar. Pulmão. *Mycoplasma pulmonis*.

PROJETO: CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO CAMUNDONGO MUTANTE COMO MODELO PARA A SÍNDROME DE KABUKI

OLIVEIRA, NICÁSSIA DE SOUSA1, GARCIA GOMES, MARIANA DE SOUZA ARANHA1, MANES, MARIANNA1, BERNARDI, MARIA MARTHA2, MASSIRONI, SILVIA MARIA GOMES3, MORI, CLAUDIA MADALENA CABRERA1

- 1 Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo;

- 2 Universidade Paulista –UNIP;

- 3 Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo

Introdução e objetivos: O camundongo de laboratório é amplamente utilizado como modelo animal na investigação de componentes genéticos e celulares que são relevantes para o entendimento de processos fisiológicos e patológicos em humanos e outras espécies animais. Inúmeras mutações em diferentes regiões do genoma do camundongo causando importantes desordens neurológicas têm sido descritas. Nas últimas décadas, esses modelos têm se constituído em importantes instrumentos para o estudo de doenças neurodegenerativas, bem como para o avanço no tratamento dessas doenças. O camundongo mutante recessivo, denominado bate-palmas (bapa) que apresenta incoordenação motora, originou-se de um projeto de mutagênese química induzida por ENU, desenvolvido no Departamento de Imunologia, ICB/USP. A técnica de sequenciamento do exoma identificou como forte candidato uma mutação no gene lysine (K)-specific methyltransferase 2D (KMTD2S, também conhecido como MLL2), no cromossomo 15, descrito como responsável pela síndrome de Kabuki em humanos. A síndrome de Kabuki é uma anomalia congênita rara, de caráter autossômico dominante, causada por uma mutação com perda de função no gene MLL2 localizado no cromossomo 12 em humanos. O presente projeto foi delineado para caracterizar o fenótipo dos camundongos mutantes bate palmas por meio da avaliação dos resultados de testes comportamentais, análises anatomopatológicas e histopatológicas e quantificação de neurotransmissores. **Materiais e métodos:** Serão utilizados camundongos machos com oito semanas de idade, dos quais 12 mutantes bate palmas e 12 camundongos BALB/c do grupo controle. A caracterização fenotípica dos camundongos mutantes abrangerá a avaliação geral do fenótipo baseando-se em uma bateria de testes comportamentais. Inicialmente, os testes serão realizados no campo aberto e ordenados por parâmetro avaliado, na seguinte sequência: 1) atividade geral e sistema sensorial: frêmito vocal, irritabilidade, reflexo auricular, aperto de cauda, reflexo corneal e resposta ao toque; 2) testes psicomotores: contorção, trem posterior, reflexo de endireitamento, tônus corporal e força de agarrar; 3) avaliação do sistema nervoso central e autônomo: tremores, convulsões, cauda em pé, sedação, anestesia, ataxia, ptose, lacrimação, micção e defecação. Na sequência, serão realizados os testes de reconhecimento de objetos, labirinto em cruz elevada, labirinto em T, coordenação motora em trave elevada, suspensão pela cauda e nado forçado. Após término dos testes comportamentais, as diferentes estruturas do SNC (estriado, córtex frontal e hipocampo) serão analisadas para determinação das concentrações de acetilcolina, noradrenalina, dopamina, serotonina, glutamato e ácido gama-amino butírico (GABA). **Apoio financeiro:** CNPq. **Palavras-chave:** Camundongos mutantes. Síndrome de Kabuki.

IDENTIFICAÇÃO DO CARBOFURANO EM AMOSTRAS ORIUNDAS DE ANIMAIS COM SUSPEITA DE INTOXICAÇÃO ENCAMINHADAS AO LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO TOXICOLÓGICO (LADTOX)

GONÇALVES-JÚNIOR, VAGNER¹; SIQUEIRA, ADRIANA¹; HAZARBASSANOV, NICOLLE QUEIROZI¹; FLORIO, JORGE CAMILO¹; FUKUSHIMA, ANDRÉ RINALDI¹; MAIORKA, PAULO CÉSAR¹; SPINOSA, HELENICE DE SOUZA¹.

¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: O carbofurano é um praguicida carbamato (inibidor das colinesterases) amplamente utilizado no Brasil para o controle de pragas agrícolas, como inseticida e nematocida. É comercializado na forma de grânulos escurecidos, popularmente conhecido como “chumbinho”. A dose letal 50% (DL₅₀) desse praguicida para camundongo, por via oral, é de 2,0 a 14,4 mg/kg e 2,0 a 20,0 mg/kg para rato. O fato de possuir amplo uso, facilidade de obtenção e dose letal relativamente baixa, faz com que o carbofurano seja associado a quadro de intoxicação em animais. **Objetivo:** Identificar, por meio de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD), a presença de carbofurano em conteúdo estomacal e/ou fígado de animais, com suspeita de intoxicação, encaminhados ao LADTOX do Departamento de Patologia (VPT) da FMVZ/USP. **Material e Métodos:** No período de janeiro 2014 a julho de 2015 foram analisadas 49 amostras biológicas oriundas de animais, provenientes do Serviço de Patologia do VPT/FMVZ/USP e amostras externas encaminhadas por médicos veterinários ao LADTOX. O critério de inclusão foi baseado na presença de grânulos escurecidos no conteúdo estomacal e/ou presença de lesões sugestivas de intoxicação por “chumbinho”. As análises para identificação do carbofurano foram efetuadas por CLAE-DAD. As amostras foram armazenadas em freezer a -20°C até o momento da análise. **Resultado e Discussão:** Foram realizados exames toxicológicos em conteúdo estomacal e/ou fígado de cães (19), gatos (24), bovinos (2), gambá (1) e aves (3), sendo identificadas 21 (43%) amostras positivas. Dentre as amostras positivas, observou-se a presença de carbofurano em nove (47%) amostras de cães, em oito (33%) de gato, em uma (50%) de bovino (50%) e em três (100%) de aves. O carbofurano causa inibição da acetilcolinesterase, o que provoca o acúmulo de acetilcolina nas terminações colinérgicas, levando a uma sintomatologia característica que pode levar à morte por parada cardiovascular. **Conclusões:** O carbofurano está associado a casos de intoxicação fatal acidental ou criminosa em animais, uma vez que mostrou alta incidência de casos positivos (43%) em amostras biológicas encaminhadas ao LADTOX, no período de janeiro 2014 a julho de 2015. **Apoio financeiro:** CNPq **Palavras-chave:** Carbofurano. Cromatografia líquida. Camundongos.

PESQUISA DE TOXOPLASMA GONDII EM CETÁCEOS NA COSTA BRASILEIRA

COSTA-SILVA, SAMIRA^{1*}, GONZALES-VIERA, OMAR², SACRISTÁN, CARLOS¹, SÁNCHEZ-SARMIENTO, ANGÉLICA MARÍA¹, MARIGO, JULIANA¹, GROCH, KÁTIA R.¹, CARVALHO, VITOR L.³, COLOSIO, ADRIANA C. 4, MARCONDES, MILTON C. C.4, BERTOZZI, CAROLINA P.5, LAILSON-BRITO, JOSÉ JÚNIOR⁶, AZEVEDO, ALEXANDRE F. 6, RUOPPOLO, VALERIA¹, OLIVEIRA, LARISSA^{7,8}, OTT, PAULO^{8,9}, CATÃO-DIAS, JOSÉ LUIZ¹

¹Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens - LAPCOM, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

²Department of Pathology, Microbiology and Immunology, School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, USA.

³Associação de Pesquisa e Preservação de Ecossistemas Aquáticos - AQUASIS, Caucaia, Ceará, Brasil.

⁴Instituto Baleia Jubarte, Caravelas, BA, Brasil.

⁵Biopessa - Universidade Estadual Paulista-UNESP - CLP, São Paulo, Brasil.

⁶Laboratório de mamíferos Aquáticos e Bioindicadores Profa. Izabel Gurgel - MAQUA/UERJ.

⁷Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul (GEMARS), Osório, RS, Brasil.

⁸Laboratório de Ecologia de Mamíferos e Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), São Leopoldo, RS, Brasil.

⁹Laboratório de Ecologia e Conservação de Organismos Aquáticos, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), Unidade Litoral Norte, Osório, RS, Brasil.

E-mail: costasilva.samira@gmail.com

Introdução e Objetivos: A toxoplasmose é uma doença causada pelo protozoário coccídeo *Toxoplasma gondii* e consiste em um dos processos parasitários mais comuns entre os animais endotérmicos. A presença desse protozoário em cetáceos pode estar associada a exposição dos animais aos oocistos de *T. gondii* eliminados pelas fezes de felídeos e/ou contato com solo contaminados com o parasita, que tenham comprometido a água do mar a partir de drenagens fluviais e fluentes ou ainda pelo escoamento de água de navios. O objetivo desse trabalho foi investigar a ocorrência de *T. gondii* nos cetáceos encalhados, ou provenientes de captura acidental, ou que vieram a óbito durante o processo de reabilitação ou cativo ao longo da costa brasileira, valendo-se para tanto de avaliações histopatológicas e de técnicas imunistoquímica (IHQ) para a procura do agente. **Materiais e Métodos:** Os principais órgãos examinados foram fígado, pulmão, linfonodo, baço e cérebro. Foram avaliados tecidos de 186 exemplares de 20 espécies diferentes de cetáceos oriundos da costa brasileira entre 1988 e 2014, cujas amostras foram encaminhadas e encontram-se depositadas no Banco de Tecidos de Mamíferos Marinhos, do Laboratório de Patologia Comparada dos Animais Selvagens (LAPCOM) do Departamento de Patologia, FMVZ-USP. Para a detecção do antígeno, foram utilizados anticorpo primário policlonal anti-*Toxoplasma gondii*, anticorpo secundário policlonal biotinilado e complexo avidina-biotina-peroxidase (ABC kit). O sistema substrato-cromógeno usado foi amino-etil-carbazol, a contracoloração empregada foi a hematoxilina de Mayer. **Resultados e Discussão:** Dos 186 mamíferos marinhos examinados, a ocorrência de *T. gondii* foi confirmada em dois (1,1%), nos quais foram encontrados cistos de *T. gondii* em pulmão e fígado. Esses animais positivos eram de duas espécies diferentes, provenientes do sudeste do Brasil. Um dos animais positivos encalhou vivo no Rio de Janeiro-RJ (*Tursiops truncatus*) e o outro espécime era proveniente de cativo (*Orcinus orca*). As principais observações histopatológicas encontradas foram

hepatite necrotizante, broncopneumonia fibrino supurativa com presença de cistos compatíveis com *T. gondii*, pneumonia broncointersticial fibrinosa com carneificação, glomérulonefrite membranosa e linfadenite necrótica. Devido à severidade das lesões suspeita-se que esse protozoário teve um importante papel no encalhe/óbito desses dois indivíduos. **Conclusões:** Duas novas espécies de cetáceos foram acrescentadas àquelas já reportadas como suscetíveis à infecção pelo protozoário, mas nunca antes descritas no Brasil. Os resultados ratificaram a ocorrência da infecção por *T. gondii* em cetáceos que frequentam a costa brasileira e a sua importância em mamíferos marinhos em cativo e de vida livre. **Palavras-chave:** *Toxoplasma gondii*. Toxoplasmose animal. Cetáceos.

PAPEL DA PATOLOGIA FORENSE VETERINÁRIA NA INVESTIGAÇÃO DE ÓBITO SOB CIRCUNSTÂNCIAS DESCONHECIDAS DE UM CÃO

CUEVAS, SILVIA ELENA CAMPUSANO¹ SIQUEIRA, ADRIANA DE¹

LACERDA, ALESSANDRA MARIA DIAS¹ MAIORKA, PAULO CÉSAR¹

¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: elena_campusano@yahoo.com.br

Introdução: A necropsia forense é um instrumento fundamental para a investigação de casos com potencial jurídico, com a determinação da causa da morte do animal. É extremamente importante a realização de uma necropsia detalhada, com descrição das lesões utilizando-se os termos médico-legais apropriados, além do registro fotográfico das alterações encontradas, devido sua possível utilização como prova. Além do exame necroscópico, sempre que possível, também deve ser realizada, a perícia do local do crime, para que as informações obtidas possam ser correlacionadas ao histórico fornecido pelos envolvidos. **Relato de Caso:** Um cão, macho, sem raça definida, com seis anos de idade, foi encaminhado para necropsia junto ao Serviço de Patologia Animal do Hospital Veterinário da FMVZ-USP. A solicitação foi efetuada pela Polícia Civil de São Paulo com boletim de ocorrência. O proprietário relatou que encontrou o animal morto com ferimento na cabeça, e chamou a polícia que realizou a perícia no local encontrando um pedaço de madeira, proveniente de uma obra na casa vizinha, com presença de sangue ao lado do corpo do animal, reforçando o conceito de acidente. Na necropsia foi constatada externamente a presença de laceração de aproximadamente 2,0 cm de extensão sobre a região mediana do osso frontal com exposição do encéfalo e fragmentos de massa encefálica aderidos aos pelos da região infraorbitária esquerda. Ao rebater a pele da região, foram observados hematomas e hemorragia sobre o osso frontal, nasal, parietal e temporal, além de múltiplas fraturas com fragmentos livres, nos ossos frontal, parietal, interparietal, occipital (parte escamosa e basilar), etmoide, pré-esfenóide e basiesfenóide. Extensa laceração e focos hemorrágicos em hemisfério cerebral direito com perda da arquitetura externa normal, bem como congestão e edema. Não foram observadas outras alterações macroscópicas relacionadas ao traumatismo cranioencefálico. O animal veio a óbito por choque neurogênico. **Discussão:** Por se tratar de um acidente relacionado a uma reforma estrutural no prédio vizinho, o que pode ser considerado um acidente de trabalho, e, portanto, foi denunciado segundo a Lei 8213/91 – Planos e Benefícios da Previdência Social (art. 19), que dispõe sobre a empresa não cumprir as normas de segurança e higiene do trabalho. Fato que difere da maioria dos casos que envolvem mortes de animais, que utilizam o art. 32 da Lei de Crimes Ambientais 9605/98, que dispõe sobre maus tratos a animais. **Conclusões:** O papel do patologista veterinário é importante, e, nestes casos, a necropsia documentada é uma

peça fundamental para a investigação de óbitos de animais com origem suspeita ou desconhecida. A descrição de lesões e a determinação da causa de morte, juntamente com a análise do local do crime e as informações obtidas, permitem que os peritos determinem o nexa causal do crime.

PROJETO: CARACTERIZAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DA GALECTINA-3 COMO FERRAMENTA PROGNÓSTICA EM MELANOMAS ORAIS CANINOS

VARGAS, THIAGO HENRIQUE MORONI¹; PULZ, LIDIA HILDEBRAND¹

²; STREFEZZI, RICARDO DE FRANCISCO¹.

¹Laboratório de Oncologia Comparada e Translacional (LOCT), Departamento de Medicina Veterinária da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, Pirassununga, SP;

²Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: rstrefezzi@usp.br

Introdução: Os melanomas são neoplasias que se originam de melanoblastos ou melanócitos. São localmente agressivos, possuem grande potencial metastático e representam cerca de 4% de todas as neoplasias malignas caninas. O prognóstico para melanomas de cavidade oral é normalmente ruim, já que o diagnóstico é usualmente tardio, momento em que a excisão é pouco efetiva. A galectina-3 é uma proteína encontrada principalmente no citoplasma e possui diversas funções biológicas associadas à proliferação celular, adesão, migração, invasão, angiogênese e apoptose, dependendo de sua localização. Apesar de ser considerado um marcador prognóstico para certas neoplasias humanas, são necessários mais estudos para elucidar sua relação com a biologia neoplásica e prognóstico do paciente. **Objetivo:** O presente trabalho irá caracterizar a expressão imunistoquímica da galectina-3 em melanomas orais malignos caninos, relacionando-a com o prognóstico e outros marcadores prognósticos já consolidados (Ki67, atipia nuclear e índice mitótico). **Materiais e Métodos:** Serão utilizadas amostras de melanomas caninos de cavidade oral, tratados cirurgicamente e acompanhados por um período de no mínimo 180 dias. As amostras serão incubadas com anticorpo primário policlonal de coelho anti-Galectina-3. Os procedimentos para determinação dos índices proliferativos serão realizados de acordo com estudos prévios. A atipia nuclear será avaliada por análise morfométrica computadorizada, com o auxílio do software *Image ProPlus*®. A análise será realizada com o auxílio do software *GraphPad Prism*® com nível de significância estabelecido em 5%. **Resultados Esperados:** Diversas pesquisas tem investigado a presença de galectina-3 em neoplasias humanas, apresentando resultados variados associados ao prognóstico, malignidade e sobrevida do animal. Mesmo em humanos, ainda não há um estudo investigando a galectina-3 em melanomas orais. Em Medicina Veterinária pouco se sabe sobre a presença desta proteína nas principais neoplasias dos animais. A hipótese aventada é que a galectina-3 possa auxiliar os marcadores já consolidados, na determinação do prognóstico do paciente. **Apoio:** FAPESP (processo 2013/13252-8). **Palavras-chave:** Imunoistoquímica. Melanoma. Neoplasias bucais. Cães.

SINALIZAÇÃO DE CONEXINA 32 ATENUA DANOS HEPÁTICOS, ESTEATOSE HEPÁTICA E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM MODELO MURINO DE DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

TIBURCIO, TAYNÁ¹; WILLEBRODS, JOOST²; PEREIRA, ISABEL¹; ARAÚJO, CINTIA¹; CRESPO YANGUAS, SARA²; MAES, MICHAEL²; DA SILVA, TEREZA¹; DAGLI, MARIA¹; VINKEN, MATHIEU²; COGLIATI, BRUNO¹

¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

²Departamento de Toxicologia *in vitro* e Dermatocosmetologia, Faculdade de Medicina e Farmácia, Vrije Universiteit Brussel.

Introdução e objetivos: A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é um importante problema de saúde em todo o mundo e está intimamente relacionada à obesidade e à síndrome metabólica em seres humanos. Esta doença caracteriza-se pela esteatose que pode evoluir para esteatohepatite, cirrose e carcinoma hepatocelular. No fígado, os hepatócitos normais expressam principalmente conexina 32 (Cx32). A comunicação intercelular por junções do tipo gap desempenha um papel importante na homeostase, desenvolvimento e fisiologia do tecido hepático. O envolvimento da sinalização de Cx32 tem sido investigado em várias doenças do fígado, no entanto, quase nada se sabe sobre esses mecanismos na esteatose hepática. Neste contexto, foi investigado o papel da sinalização da Cx32 em um modelo dietético de DHGNA. **Materiais e métodos:** Camundongos C57BL/6 machos knockout para Cx32 (KO) e camundongos selvagens (WT) com oito semanas de idade receberam dieta hiperlipídica deficiente em colina (DHDC) por oito semanas. Após esse período, os animais foram pesados, eutanasiados e foram coletados o sangue, para análises bioquímicas, o fígado para análise histopatológicas e extração de proteína e as gorduras epididimal e retroperitoneal para pesagem. Entre os dois grupos foram comparados o peso corporal, o peso do fígado, o peso das gorduras retroperitoneal e epididimal, níveis de AST e ALT séricos, níveis triglicérides e colesterol séricos e hepáticos, além das citocinas IL-10, IL-6, IL-1β, IFN-γ e TNF-α no tecido hepático. **Resultados:** O peso corporal e peso da gordura retroperitoneal/epididimal foram semelhantes entre camundongos WT e Cx32-KO no modelo da DHDC. No entanto, o peso relativo do fígado, AST e ALT no soro, níveis de colesterol, teor de triglicérides hepático e peroxidação lipídica foram significativamente aumentados nos camundongos Cx32-KO. Além disso, os camundongos Cx32-KO apresentaram menores níveis de IL-10 no fígado, porém não foram observadas diferenças de IL-6, IL-1β, IFN-γ e TNF-α hepáticos. **Conclusão:** No geral, os resultados mostraram efeitos protetores da sinalização de Cx32 contra a lesão hepatocelular, acúmulo de triglicérides e peroxidação lipídica em modelo murino de esteatose hepática. Estes achados sugerem o potencial papel terapêutico das conexinas 32 contra danos ao fígado relacionados ao acúmulo de lipídios e estresse oxidativo. **Palavras-chave:** Esteato-Hepatite não alcoólica. Modelo Murino. Conexina 32. Camundongos.

EVALUATION OF DEPRESSIVE-LIKE BEHAVIOR IN ADULTS MICE ASSOCIATED WITH ADMINISTRATION OF SUBCUTANEOUS INJECTION OF ETHANOL IN NEONATAL PERIOD

¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introduction: the post-natal day (PND) 10 is a critical stage for brain development, comprised in the brain growth spurt (BGS) phase, characterized

by periods of especially large increases of brain. In that stage, the neuronal connections are being established and chemical injuries can be toxic. Among the toxic substances, the ethanol is known to have an extensive apoptotic neurodegeneration effects throughout many regions of the developing brain, including GABAergic neurons, and this can serve to explore the function of brain regions and their relationship with depressive behavior. Objective: assess the depressive-like behavior of adult mice submitted to subcutaneous (S.C.) injection of ethanol at the PND 10. **Material and Methods:** at PND 10 the male mice pups received ethanol (3.5 g/kg, S.C.) or saline (NaCl 0,9%) in the same volume (1 ml/kg). At the PND 85 the animals were evaluated in the tail suspension test (6 min/session). All experiments were performed in accordance with the guidelines of FMVZ-USP (protocol CEUA nº 484420015). **Results and Discussion:** in the tail suspension test was observed significant increase on immobility time (t test, p<0.0001). This parameter can be correlated with the depressive-like behavior in rodents. Beside, ethanol is a GABA-acting drug and studies show that it is capable of causing neurodegeneration. The reduction of GABAergic neurons can be associated with several problems, including depression. **Conclusion:** therefore, the action of ethanol during the BGS phase is capable to cause brain changes such as depression-like behavior during adulthood. However, further studies are needed to assess the effects of alcohol on neural levels. Everton Barbosa Bertaglia CPF: 430.414.408-14 Helenice de Souza Spinosa CPF: 006.439.408-55 **Apoio financeiro:** FAPESP (Processo nº 2015/01928-2); CNPq **Keywords:** Mice. Behavior, Animal. Depression. Ethanol. Neonatal period.

AValiação DA MIELINIZAÇÃO POR COLORAÇÃO LUXOL FAST BLUE (LFB) E DE ALTERAÇÕES DE COMPORTAMENTO EM CAMUNDONGOS SWISS PORTADORES DE MUTAÇÃO ESPONTÂNEA QUE CAUSA TREMORES, ATAXIA E CONVULSÕES

OLIVATO, MÁRCIA C. MILLÁN¹; MORI, CLAUDIA M. CABRERA¹; DAGLI, MARIA L. ZAIDAN¹

¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução e objetivos: No Biotério do Departamento de Patologia da FMVZ/USP, identificou-se uma mutação espontânea na colônia de camundongos Swiss, que foram denominados Swiss-tr. Esses camundongos apresentam tremores, ataxia e convulsões. Na análise do fenótipo, verificou-se que os Swiss-tr ganham menos peso que os animais controle e que o tremor durante os movimentos voluntários se tornam mais intensos com a idade. Os sintomas apresentados pelos animais mutantes foram consistentes com alterações do SNC, como hipomielinização ou desmielinização. Conhecendo a importância do estabelecimento de modelos murinos para o estudo de doenças neurodegenerativas, o presente trabalho avaliou alterações na mielinização pela coloração de Luxol Fast Blue (LFB) e realizou os testes comportamentais RotaRod e a Natação Forçada para a avaliação da coordenação motora e o equilíbrio dos camundongos mutantes. **Materiais e métodos:** Para esse experimento foram utilizados camundongos machos e fêmeas, Swiss e Swiss-tr, provenientes do Biotério do Departamento de Patologia da FMVZ-USP. Para realização das colorações foi coletado o Sistema Nervoso Central dos mutantes em diferentes idades, fixado em formol 10%, processado e incluído em blocos de parafina. Foram utilizadas as colorações hematoxilina-eosina (HE) e LFB, cuja finalidade é identificar a mielina no tecido. O teste de natação forçada foi iniciado com a colocação do camundongo no interior de um recipiente para natação, sendo aí mantido por 15 minutos (sessão de treinamento). No dia seguinte da sessão de treinamento, o animal foi recolocado no recipiente

por cinco minutos, em que foi anotada a latência para o animal parar de nadar. No teste RotaRod foi utilizado o protocolo de Carter. Os animais foram colocados na barra rotatória durante dois dias seguidos pelo período de um minuto, a análise foi realizada comparando-se o tempo em que o animal permaneceu na barra nos dois dias. **Resultados e Discussão:** Na análise do histopatológico do SNC com coloração HE não foi evidenciada diferença entre os grupos controle e mutantes. Já com a coloração LFB foi constatado que o cerebelo de animais mutantes cora menos, indicando que possuem menos mielina que os controles. No RotaRod observou-se que os camundongos mutantes não apresentaram coordenação motora em ambos os dias de testes. Na Natação Forçada, a maioria dos camundongos controle boia ao ser colocada na água, porém, os mutantes mostraram maior agitação durante todo o tempo. **Conclusões:** Por meio da coloração LFB, pode-se concluir que há alteração de mielina nos camundongos mutantes em relação aos controles. Além disso, a falha na coordenação motora e de equilíbrio foram confirmadas no teste RotaRod. Os camundongos mutantes são capazes de nadar, no entanto apresentam um nado compulsivo. Fapesp:processo 2012/22081-o **Palavras-chave:** Comportamento animal. Camundongos mutantes. Camundongos Swiss. Mielina de animal.

EFEITOS DA EXPOSIÇÃO DE RATOS A VARENICLINA POR 28 DIAS NO CONSUMO DE ÁGUA E RAÇÃO, BEM COMO NO COMPORTAMENTO NO CAMPO ABERTO E NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

MAGALHÃES, JULIA ZACCARELLI¹; UDO, MARIANA SAYURI BERTO²; SPINOSA, HELENICE DE SOUZA³

¹Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

³Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução e Objetivo: A vareniclina é uma substância química sintética utilizada para o tratamento de tabagismo. Seu mecanismo de ação consiste na ligação aos receptores colinérgicos nicotínicos com efeito agonista parcial dos receptores α4β2 e α3β4 e como agonista total do receptor α7. Essa substância pode causar efeitos colaterais indesejáveis, como náusea, dores de cabeça, vômitos e efeitos cardiovasculares e neuropsiquiátricos. Levando em consideração que há uma tendência de ampliação do uso clínico da vareniclina e que há poucos estudos relacionados aos efeitos comportamentais, cognitivos e motores, tornam-se necessários mais estudos sobre seus efeitos farmacológicos. O presente trabalho investigou os efeitos da exposição de ratos a vareniclina, por 28 dias, analisando as variáveis: ganho de peso, consumo de água e de ração, bem como o comportamento no campo aberto e no labirinto em cruz elevado. **Material e Métodos:** Quarenta ratos machos foram separados em quatro grupos iguais (N=10) que receberam vareniclina ou água filtrada, por gavagem, durante 28 dias: grupo controle (A) – 1 ml/kg de água; grupo B – 0,03 mg/kg de vareniclina; grupo C – 0,1 mg/kg de vareniclina; e grupo D – 0,3 mg/kg de vareniclina. A vareniclina (Champix® - Pfizer) foi diluída em água filtrada e administrada em volume de 1 ml/kg. Foram avaliados o ganho de peso dos animais, bem como o consumo de água e de ração semanal durante a exposição à vareniclina. No 28º dia de tratamento, os ratos foram colocados no campo aberto e, em seguida, no labirinto em cruz elevado para avaliação dos seus comportamentos. Os parâmetros avaliados no campo aberto foram as frequências de locomoção, levantar, grooming e defecação,

bem como os tempos (s) de *grooming* e de imobilidade de cada animal. Os parâmetros avaliados no labirinto em cruz elevado foram as frequências de entradas nos braços fechados e nos braços abertos, o tempo de permanência nos braços fechados e abertos e a frequência de *head-dipping* e de avaliação de risco. **Resultados e Discussão:** Os ratos tratados com vareniclina não tiveram alterações no ganho de peso nem no consumo de ração e de água quando comparados com o grupo controle, indicando ausência de toxicidade. A análise do comportamento dos ratos no campo aberto e no labirinto em cruz elevado não mostrou diferenças significantes entre os grupos, indicando ausência de alterações na função motora e comportamentos relacionados à ansiedade. **Conclusão:** A exposição de ratos a vareniclina por 28 dias não causou toxicidade nem alterações no comportamento no campo aberto e no labirinto em cruz elevado. **Apoio financeiro:** FAPESP, CAPES e CNPq. **Palavras-chave:** Ratos. Vareniclina. Comportamento animal.

CARACTERÍSTICAS E POSSÍVEIS FATORES DE RISCO EM CERVOS NEOTROPICAIS COM HISTÓRICO DE TRAUMA E ENCAMINHADOS AO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA COMPARADA DE ANIMAIS SELVAGENS – LAPCOM, FMVZ, USP, BRASIL

NAVAS-SUÁREZ, PEDRO ENRIQUE¹; MATUSHIMA, ELIANA REIKO¹; CATÃO-DIAS, JOSE LUIZ¹

¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. SP, Brasil.

Introdução e Objetivos: Sabe-se que o traumatismo é uma das principais causas de morte em cervídeos e que, nestes casos, o atropelamento é importante. Há uma considerável ponderação sobre o estado geral de saúde dos animais atropelados, já que alguns autores postulam que doenças seriam as responsáveis por mudanças comportamentais que favoreciam o atropelamento. Porém, outros autores acreditam que este é dado pelo acaso. Buscando determinar as características e possíveis fatores de risco em cervos neotropicais com histórico de traumatismo, foram avaliados relatórios necroscópicos de 170 animais recebidos pelo Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens–LAPCOM, da FMVZ/USP no período de 1995 a 2015. **Materiais e Métodos:** Foram determinados os parâmetros espécie (SP), idade (ID), sexo (S), condição (*in situ* ou *ex situ*) (C), tempo em cativeiro (TC), condição corporal (CC) e ectoparasitose (E), assim como as alterações macroscópicas em função dos sistemas acometidos. Para determinar associação entre o trauma e as variáveis acima mencionados, realizou-se análise estatística por meio de Odds Ratio (OR) e Qui quadrado (χ²). **Resultados e Discussão:** Setenta e nove de 170 (40,6%) animais apresentaram histórico de trauma, e as principais causas foram ataque por cães, 20,3% (14/69), atropelamento, 8,7% (6/69) e auto induzido, 7,2% (5/69); em 59,4% (41/69) dos casos a causa do trauma não foi determinada. Quanto às informações gerais, 84% (58/69) dos indivíduos pertenciam à espécie *Mazama gouazoubira*, 15,9% (11/69) eram *Blastocerus dichotomus*, 53,6% (37/69) fêmeas, 46,4% (32/69) machos; 53,6% (37/69) adultos, 40,6% (28/69) jovens, 5,8% (4/69) indeterminados; 88,4% (61/69) eram provenientes de vida livre, 8,7% (6/69) de cativeiro, 2,9% (2/69) indeterminados; 50,7% (35/69) ficaram em cativeiro menos de três semanas, 7,2% (5/69) mais de três semanas, 42% (29/69) por tempo indeterminado e 49,3% (34/69) dos animais reportaram ectoparasitose. As variáveis que apresentaram associação nos testes de OR e χ² foram: SP, CC, TC, C, E e comprometimento à necropsia dos sistemas tegumentário, musculoesquelético e nervoso; porém no χ² o sistema cardiovascular também apresentou-se comprometido à necropsia. No OR as características gerais dos animais

acometidos por trauma foram: a espécie *M. gouazoubira*, a boa condição corporal, o fato de serem provenientes de vida livre e com infestação por carrapatos. Nota-se que os sistemas que apresentaram valores positivos no OR e χ^2 são os principais acometidos pelo trauma. Em diversas espécies de animais selvagens a infestação por ectoparasitas tem sido associada à mortalidade assim como no atropelamento. No presente trabalho a ectoparasitose foi um fator de risco para o trauma. **Conclusão:** Estes resultados são preliminares e buscam aportar informação para o entendimento da mortalidade deste táxon no Brasil. **Apoio financeiro:** FAPESP (processo 2015/04231-2) **Palavras-chave:** Cervos neotropicais. Ferimentos e lesões. Traumatismos de animal.

CARACTERIZAÇÃO E ISOLAMENTO DE CÉLULAS-TRONCO CANCEROSAS A PARTIR DE CULTIVO IN VITRO DE CÉLULAS DE PULMÃO DE CAMUNDONGOS

ROCHETTI, ARINA LÁZARO XAVIER¹; BRESSA, PEDRO LUIZ

PORFIRIO¹; HEIDGE, FABIANA FERNANDES FUKUMASU¹

¹Laboratório de Oncologia Comparada e Translacional (LOCT),

Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Zootecnia e

Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP,

Brasil.

Introdução e Objetivo: Atualmente, o câncer é uma das doenças com maior índice de óbitos no mundo e acredita-se que uma pequena população de células conhecida como células tronco cancerosas (CTCs) possam ser responsáveis pela recorrência e recidiva tumoral. O presente trabalho caracterizou, identificou e separou células de pulmão de camundongo, das quais uma linhagem não tumoral E10 e uma tumoral E9. **Materiais e Métodos:** Foi realizada a análise da disposição dos filamentos de actina com o emprego da Faloidina, teste de migração com o método de “Scratch”, teste de invasão por meio do Transwell e separação das CTCs por citometria de fluxo. **Resultados:** Foi constatado que as células E9 migram e fecham completamente o “Scratch” em apenas 20 horas, já as E10 levaram mais de 48 horas. Na comparação da capacidade de invasão das células, foi observada uma diferença significativa ($p < 0,0043$) indicando que E9 foi mais invasiva. A análise das CTCs por citometria, revelou a existência de uma diferença significativa ($p < 0,0016$) em relação à quantidade de CTCs em que as E9 superaram as E10. Com o teste da Faloidina, foi observada diferença na disposição dos filamentos pois as E10 apresentaram filamentos organizados e nas E9 os filamentos eram desorganizados o que está relacionado a diminuição da quantidade de proteínas de adesão o que facilita a migração, invasão e metástase. **Conclusão:** As células estudadas são um bom modelo para experimentos delineados para comparar linhagens tumorais e não tumorais. **Palavras-chave:** Células-tronco. Células-tronco cancerosa. Camundongos. Neoplasias.

SINAIS NEUROLÓGICOS SEGUIDOS DE MORTE DE ETIOLOGIA INCONCLUSIVA EM LONTRA NEOTROPICAL (LONTRA LONGICAUDIS): DESAFIOS PARA O DIAGNÓSTICO E IMPLICAÇÕES PARA A SANIDADE DA ESPÉCIE

REISFELD, LAURA^{1,2}, GROCH, KATIA¹, SALVAGNI, FERNANDA¹,

ANDRE, FABIANA², PEREIRA, THAIS² SILVATTI, BRUNA², HURTADO,

RENATA³. CAMPOS, ANGELICA³, GOES, LUIZ GUSTAVO³, CATROXO,

MARCIA⁴, CATÃO-DIAS, JOSE LUIZ¹

¹ Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens (LAPCOM) –

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

² Aquário de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

³ Laboratório de Virologia Clínica e Molecular, Departamento de

Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

⁴ Laboratório de Microscopia Eletrônica, Centro de Pesquisa e

Desenvolvimento de Sanidade Animal, Instituto Biológico, São Paulo, SP,

Brasil.

E-mail: laurareisfeld@yahoo.com

Introdução: Entre as principais ameaças a Lontra Neotropical estão as ações antrópicas. Consequentemente, o aparecimento de filhotes em centros de triagem e zoológicos é cada vez mais frequente. **Relato de Caso:** Dois filhotes de lontra neotropical, uma fêmea e um macho, nascidos em vida livre, foram encontrados em Belém-PA e Maricá-RJ, respectivamente, e encaminhados para centros de triagem de animais silvestres e, posteriormente, para o Aquário de São Paulo. Na admissão não foram realizados exames sorológicos específicos para agentes infecciosos. Após dois anos em cativeiro, apresentaram quadro neurológico e foram a óbito. As principais alterações observadas foram incoordenação nos membros posteriores, balanço da cabeça, fraqueza, apatia e midríase. Apesar do tratamento suporte, seis dias após início dos sinais, o macho veio a óbito por parada respiratória e, no sétimo dia, a fêmea apresentou convulsão seguida de óbito. Na necropsia, foi constatado congestão e focos de hemorragia no pulmão, cérebro, pâncreas e linfonodos, e discreta hepatomegalia. Os principais achados histopatológicos incluíram proliferação de astrócitos de Bergman e discreta perda de células de Purkinje no cerebelo, hemorragia focal no córtex cerebral; congestão pulmonar moderada a severa, infiltrado misto perivascular multifocal discreto e hemossiderose pulmonar; hemorragia multifocal, discreta linfocitólise e expansão de manto no linfonodo mesentérico, e necrose hemorrágica esplênica multifocal. Com base na apresentação clínica e resultados dos exames complementares, o diagnóstico diferencial incluiu infecção pelo vírus da cinomose, toxoplasmose, leptospirose, hipovitaminose por tiamina e intoxicação por chumbo. Os resultados preliminares da pesquisa do vírus da cinomose por imunocromatografia, microscopia eletrônica, PCR e imunistoquímica de tecido cerebral foram negativos. **Discussão e Conclusão:** Vale ressaltar a dificuldade da realização de algumas provas laboratoriais devido à quantidade de material disponível e da necessidade de padronização das análises para a espécie. Até o momento ainda não foi determinada a causa deste episódio. No Brasil, são escassos os estudos de avaliação sanitária ou de doenças presentes em lontras neotropicais. Como os animais do presente relato eram oriundos de ambiente natural, é necessária a continuidade da investigação da respectiva causa de morte, haja vista a relevância que isto pode ter tanto para as populações in situ quanto ex situ. Casos como o aqui relatado demonstram a dificuldade existente, na atualidade, em nosso meio, para o esclarecimento dos agravos que podem acometer esta espécie, tanto na natureza quanto em cativeiro e destacam a necessidade de investimento contínuo no desenvolvimento de técnicas diagnósticas e de capacitação profissional. **Palavras-chave:** Lontra neotropical. Saúde animal.

PROJETO EM ANDAMENTO: DETERMINAÇÃO DAS FRAÇÕES DE COPAIFERA RETICULATA DUCKE ENRIQUECIDAS EM BIOMOLÉCULAS ANTINEOPLÁSICAS.

DOMINGUES, PÚBLO SANTOS^{1,2}; ROCHETTI, ARINA LÁZARO¹;

FUKUMASU, HEIDGE^{1,2}

¹ Laboratório de Oncologia Comparada e Translacional (LOCT),

Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Zootecnia e Engenharia

de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, Brasil.

² Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e

Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: Mesmo com os avanços científicos de terapias para o tratamento do câncer, ainda existe a necessidade da busca de novos procedimentos destinados a prevenção e tratamento dessa patologia. Uma alternativa possível é a fitoterapia com o emprego de plantas que contenham substâncias quimiopreventivas. Um exemplo é o óleo extraído da árvore *Copaifera reticulata* Ducke, que apresenta várias indicações etnofarmacológicas entre as quais está incluído o tratamento de vários tipos de neoplasia. Já foi constatado que o óleo de copaiba in natura apresenta atividade antineoplásica. No presente trabalho, o óleo da planta foi fracionado em sua porção volátil e resinosa e o efeito citotóxico e pró-apoptótico de suas biomoléculas foram avaliados em cultivos de células cancerosas e não cancerosas de pulmão de camundongo, respectivamente E9 e E10. **Material e Métodos:** O óleo foi fracionado com o emprego da técnica de destilação por arraste a vapor. Quarenta mililitros do óleo foram colocados em um balão volumétrico junto a 100mL de água destilada e aquecido por 2h a 76,3°C. No teste de citotoxicidade, foram utilizadas seis placas de 96 poços das quais três placas para E9 e três placas para a E10. Para cada linhagem, uma com óleo de copaiba in natura (OC), uma com a fração resina (FR) e outra com a fração volátil (FV). As placas foram mantidas a 37°C. O teste de citotoxicidade das frações foi realizado por ensaio colorimétrico com o reagente MTT, e foi expresso como a concentração que inibiu 50% das células (IC₅₀). A análise do ciclo celular será efetuada por citometria de fluxo. A taxa de apoptose será quantificada com a técnica de fluorescência com Laranja de Acridina e Brometo de Etídio. **Resultados e Discussão:** A análise de absorvância mostrou as IC₅₀ do tratamento das E10 com (OC) 0,07872µL, (FR) 0,2137µL e com (FV) 125,4µL e das E9 com (OC) 0,09384µL, (FR) 0,1861µL e (FV) 73,59µL. Os resultados obtidos até o presente indicaram que (OC) possui atividade antineoplásica, porém, que também é muito citotóxico para células hígdas. Para (FR) na concentração de 0,1861µL nas células E9, houve melhor ação quando comparada ao cultivo das E10, onde a concentração inibitória foi de 0,2137µL. Para (FV) os valores de IC₅₀ foram muito altos, inviabilizando o seu uso. **Conclusões:** O óleo de *Copaifera reticulata* Ducke in natura foi citotóxico para as duas linhagens celulares empregadas. Já com o emprego da sua fração resina, morreram mais células cancerosas. Nos ensaios efetuados com fração volátil (FV), não houve danos em quaisquer concentrações em ambos os cultivos, sugerindo-nos que as propriedades quimioterápicas com maiores possibilidades de uso possam estar na fração resina. Os experimentos serão repetidos e ainda serão efetuadas as análises do ciclo celular e da taxa de apoptose. **Palavra-chave:** Biomoléculas antineoplásicas. *Copaifera reticulata* Duke. Fitoterapia.

PROTOCOLO ANESTÉSICO E ANALGÉSICO PARA CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À VASECTOMIA

ANTIORIO, ANA TADA FONSECA BRASIL¹; MORI, CLÁUDIA

MADALENA CABRERA¹

¹ Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina Veterinária e

Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP).

Email: anatbrasil@usp.br

Introdução e Objetivos: A vasectomia em camundongos é um método utilizado para obtenção de machos não férteis empregados para a indução de pseudoprenhez em fêmeas receptoras de embriões. Em fêmeas de camundongos, o coito induz a pseudoprenhez, estado fisiológico necessário para a implantação dos embriões. Para o procedimento cirúrgico, os animais devem estar em plano anestésico e deve ser realizada analgesia pós-cirúrgica que assegure o bem-estar dos animais. Os agentes anestésicos injetáveis mais utilizados para a realização de procedimentos cirúrgicos em camundongos

são: cloridrato de quetamina (dissociativo) associado com o cloridrato de xilazina (alpha -2 agonista) e acepromazina como sedativo. Neste protocolo foi testado o opióide fentanil como analgésico. O presente trabalho avaliou o protocolo anestésico injetável com a associação de cloridrato de quetamina, cloridrato de xilazina e acepromazina para a realização de vasectomia em camundongos e promoveu a analgesia pós-cirúrgica com o fentanil. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados nove camundongos SPF, machos, F1B6xCBA, criados no Biotério de Matrizes, Instituto de Ciências Biomédicas/USP. Os anestésicos (quetamina 100 mg/kg, xilazina 10 mg/kg e acepromazina 1mg/kg) foram administrados em uma mesma seringa, via intraperitoneal conforme o peso do animal. Após o término do procedimento, o fentanil foi administrado via subcutânea, na dose de 0,4 mg/kg e 0,2 mg/Kg. Os parâmetros avaliados foram reflexo podal e caudal e aumento da frequência da taxa respiratória. Os animais foram mantidos sob placa aquecida a 37°C durante a cirurgia e até recuperação. **Resultados e discussão:** Não houve período excitatório durante a indução da anestesia. Os reflexos podal e caudal permaneceram por 5 a 10 minutos. Dentro desse período, a frequência respiratória ficou alterada frente aos estímulos dolorosos de pinçamento. Os animais apresentaram boa tolerância cirúrgica por aproximadamente 30 minutos, período em que foi realizado o procedimento. Três animais morreram após a administração do fentanil e então a dose desta droga foi reduzida pela metade. Os animais não respondiam a estímulos dolorosos, mas a frequência respiratória dos mesmos apresentou-se muito reduzida e superficial. Os opioides promovem analgesia profunda, entretanto, provocam efeitos adversos que incluem depressão respiratória, hipotensão e bradicardia. **Conclusão:** A associação dos agentes anestésicos testados mostrou-se eficiente e segura para a realização da vasectomia, entretanto, a dose do fentanil destinada a promoção da analgesia pós-cirúrgica deve ser reavaliada com o emprego de medicação pré-anestésica, como, por exemplo, a atropina. CEUA ICB/USP: no 04, fls.124 do livro 02. **Palavras-chave:** Camundongos. Vasectomia. Anestésicos. Analgésicos.

REDERIVAÇÃO DE LINHAGENS DE CAMUNDONGOS POR TRANSFERÊNCIA EMBRIONÁRIA PARA OBTENÇÃO DE COLÔNIAS LIVRES DE PATÓGENOS ESPECÍFICOS (SPF)

ANTIORIO, ANA TADA FONSECA BRASIL¹; MASSIRONI, SÍLVIA

MARIA GOMES²; CARVALHO, MÁRCIO AUGUSTO CALDAS ROCHA²;

MORI, CLÁUDIA MADALENA CABRERA¹

¹ Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina Veterinária e

Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP).

² Departamento de Imunologia. Instituto de Ciências Biomédicas da

Universidade de São Paulo (USP).

Email: anatbrasil@usp.br

Introdução e Objetivos: O Biotério de Camundongos do Departamento de Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB/USP) é adaptado para manter a colônia de criação em condições livre de patógenos específicos (SPF) por meio de barreiras sanitárias restritas. Todos os materiais e insumos utilizados dentro do biotério devem ser esterilizados por meios físicos ou químicos. Linhagens recebidas de outros biotérios devem passar pelo processo de rederivação por transferência embrionária, que é um método utilizado para se eliminar patógenos de colônias de roedores de laboratório. A transferência embrionária é um procedimento padrão utilizado para se rederivar linhagens de camundongos em biotérios mantidos sob condições SPF, sendo uma prática empregada para evitar a transmissão vertical de infecções pós-implantacionais. O presente trabalho relata o resultado da implantação da técnica de rederivação por transferência

embrionária no biotério de camundongos do Departamento de Imunologia do ICB/USP. **Materiais e Métodos:** As transferências embrionárias foram realizadas para rederivar linhagens de camundongos procedentes de diferentes biotérios nos quais havia sido detectada a presença de patógenos. Os embriões foram obtidos pelos métodos naturais (in vivo), por meio do acasalamento das fêmeas doadoras superovuladas, com machos férteis da mesma linhagem. Os embriões foram coletados por flushing e lavados em meio estéril por dez vezes. Dez a 15 embriões no estágio de duas células foram transferidos para fêmeas receptoras SPF, F1B6xCBA, nulíparas, pseudoprenhas no dia 0,5 pós coito (dpc). Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados em condições assépticas sob o fluxo laminar. **Resultados e Discussão:** As transferências embrionárias foram realizadas em 30 fêmeas receptoras. Foram rederivadas 13 linhagens. Após o desmame dos filhotes o controle microbiológico realizado nas fêmeas receptoras comprovou a eficácia da rederivação, pois não foram mais registrados os patógenos inicialmente identificados nas fêmeas doadoras. **Conclusão:** O método possibilitou a introdução de novas linhagens na criação, em condições SPF, com a consequente disponibilização de modelos animais com nível sanitário adequado à experimentação para a comunidade científica. CEUA ICB/USP: no 04, fls.124 do livro 02. **Palavras-chave:** Rederivação de linhagens. Camundongos. Transferência de embriões animal.

PROJETO: AVALIAÇÃO MUTACIONAL DOS GENES BRCA1 E BRCA2 EM TUMORES MAMÁRIOS DE GATAS E CORRELAÇÃO COM ASPECTOS CLÍNICOS, HISTOPATOLÓGICOS E IMUNOISTOQUÍMICOS

BRUNO COGLIATI¹; VERÔNICA MOLLICA GOVONI¹; EVELYN VIEIRA ZANESCO¹; FABRIZIO GRANDI²

¹DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA DA FMVZ-USP;

²DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU

Introdução e Objetivo: O câncer de mama é uma neoplasia de grande importância em mulheres e também apresenta alta prevalência em pequenos animais. Estes tumores são classificados histologicamente e subclassificados de acordo com marcadores imunoistoquímicos e moleculares, que, em humanos, estão diretamente relacionados a fatores preditivos e prognósticos. Em gatas, a maior parte dos tumores mamários não expressa os receptores para estrógeno (ER) e progesterona (PG), assim como não apresenta superexpressão do fator de crescimento epidermal 2 (HER-2), e são classificados como tumores triplo-negativos. Em mulheres, as neoplasias mamárias com este mesmo fenótipo são consideradas mais agressivas, resistentes às terapias instituídas e comumente apresentam mutações nos genes BRCA1 e BRCA2. Como os tumores de mama em gatas são, em sua maioria, malignos e com alto grau de agressividade, o presente trabalho foi delineado para investigar a presença de mutações nos genes BRCA1 e BRCA2, correlacionando estes dados com os achados clínicos, histopatológicos e imunohistoquímicos. **Material e Métodos:** Serão incluídas no estudo 52 gatas atendidas e submetidas a procedimentos cirúrgicos no Serviço de Cirurgia do Hospital Veterinário Público de São Paulo. Os dados clínicos e laboratoriais serão obtidos dos prontuários dos animais. Será realizada avaliação histológica, imunoistoquímica, extração de DNA de material parafinado, com posterior Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e sequenciamento de diversos exons dos genes felinos BRCA1 e BRCA2. A investigação de novos marcadores imunoistoquímicos e moleculares em neoplasias mamárias de gatas poderá fornecer informações relevantes para o manejo clínico destes pacientes, além de

permitir uma melhor compreensão de sua patogênese, bem como, da realização de estudos em oncologia comparada. **Palavras-chave:** Gene BRCA1. Gene BRCA2. Neoplasias mamárias. Gatos, fêmea.

PROJETO: PESQUISA DIAGNÓSTICA POST MORTEM DE AFOGAMENTO E BAROTRAUMA PULMONAR EM TARTARUGAS MARINHAS EMARANHADAS EM REDES DE PESCA NA REGIÃO DE UBATUBA (SP)

CRUZ-OCHOA, PABLO F.1; MATUSHIMA, ELIANA REIKO¹

¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução e Objetivos: As tartarugas marinhas são habitantes importantes dos oceanos, e a sua população representa um índice de saúde desses ecossistemas. Atividades socioeconômicas e culturais dos seres humanos estão causando uma diminuição drástica nas populações de tartarugas marinhas e a pesca com redes de arrasto e de espera é uma das práticas que tem ocasionado transtornos importantes para estes animais. O afogamento é um tipo de asfixia que ocorre em meio aquático, pela entrada ou não de água no espaço pulmonar. O objetivo do presente trabalho é caracterizar as lesões decorrentes de afogamento em tartarugas marinhas presas nas redes de pesca na região de Ubatuba. **Materiais e Métodos:** Os animais entregues ao Projeto Tamar serão submetidos à necropsia, análise histopatológica, pesagem de órgãos (pulmão e estômago). Além disso, serão efetuadas análises de salinidade do líquido celomático, bronquial e do conteúdo estomacal, junto com dosagem de magnésio (Mg) e cálcio (Ca), em líquido pericárdico, celomático e no sangue. **Apoio financeiro:** CAPES. **Palavras-chave:** Tartarugas marinhas. Ferimentos e lesões. Afogamento. Ubatuba (SP).

PROJETO: AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE GALECTINAS EM MELANOMA ORAL CANINO E SUA CORRELAÇÃO COM O ESTADIAMENTO CLÍNICO

GARCIA, JÉSSICA¹; MASSOCO, CRISTINA¹

¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: O melanoma oral, neoplasia frequente em cães, tem caráter maligno, invasivo, com potencial metastático. Na atualidade, muitas modalidades de tratamento estão sendo estudadas para essa neoplasia. Estudos recentes têm se voltado para a compreensão do microambiente tumoral e das formas disponíveis para a sua manipulação. As galectinas são proteínas ligadas a carboidratos da família das lectinas presentes no núcleo, citoplasma e superfície de células que são secretadas em diversos tecidos. Nos mamíferos já foram identificadas 15 galectinas, porém a galectina-1 e a galectina-3 parecem ser as mais fortemente relacionadas com a progressão neoplásica e formação de metástases. Acredita-se que estas duas galectinas estejam associadas à transformação neoplásica, sobrevivência da célula neoplásica, angiogênese, evasão do sistema imune e formação de metástases. A galectina-1 está principalmente relacionada com a transformação tumoral, evasão do sistema imune e está sendo estudada em alguns tipos de tumores humanos como de pulmão, ovário, mama e gástrico. A galectina-3 está particularmente associada com a adesão entre as células neoplásicas e a adesão entre as células neoplásicas e o endotélio, além de aumentar a sobrevivência dessas células na corrente sanguínea contribuindo assim para a formação de metástases. A galectina-3 já foi identificada em diversos tumores humanos: colorretal, gástrico, carcinoma pancreático, pulmonar, prostático e no

melanoma cutâneo. **Objetivos:** O presente projeto foi delineado para avaliar o padrão de expressão de galectina-1 e galectina-3 no melanoma oral canino com o emprego da técnica de imunoistoquímica e para correlacionar os níveis séricos e tecidual de galectina-3 com o estadiamento clínico com a técnica de ELISA. **Justificativa:** Considerando-se a invasividade e a agressividade do melanoma oral tanto em cães quanto em humanos, busca-se um melhor entendimento do desenvolvimento dessa neoplasia, além da pesquisa por novas modalidades terapêuticas que possam retardar a progressão neoplásica e aumentar a sobrevida com qualidade de vida dos pacientes acometidos. Não existem descrições do padrão de expressão de galectinas para o melanoma canino, assim a avaliação da expressão das gal-1 e gal-3 nos melanomas orais de cães é o primeiro passo para elucidar se essas moléculas podem estar associadas à progressão tumoral e desenvolvimento de metástases nesses animais, além de servirem como futuros alvos terapêuticos. Além disso, nesses pacientes, também será investigada a existência de elevação da concentração sérica de gal-3 que poderá ser correlacionada com o estadiamento clínico e contribuir como um fator prognóstico. **Palavras-chave:** Melanoma. Neoplasias bucais. Galectina 1. Galectina 3. Cães. Imunoistoquímica.

APRESENTAÇÕES DE PÔSTER - CATEGORIA DOUTORADO

PADRONIZAÇÃO DA GERAÇÃO DE CÉLULAS DENDRÍTICAS HUMANAS A PARTIR DE CÉLULAS SANGUÍNEAS MONONUCLEARES PERIFÉRICAS

CRUZ, DANIEL SANZIO GIMENES¹; LIMA, ANA PAULA¹; MOREIRA, NATALLIA¹;MORAIS, CRISTIANE¹; MASSOCO, CRISTINA¹ .

¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: As células dendríticas (DCs) são células apresentadoras de antígeno envolvidas nas respostas imunológicas. Em humanos, os níveis de DCs presentes no sangue periférico (0,16-0,68%) são muito baixos para a realização de testes biológicos. A geração de DCs derivadas de monócitos (Mo-DCs) é uma alternativa interessante para a obtenção de maiores quantidades de tais células. **Material e Métodos:** Mo-DCs foram cultivadas a partir de células sanguíneas mononucleares periféricas de câmara de leucorredução de um doador saudável. O sangue foi diluído 1:5 em PBS EDTA e a suspensão foi centrifugada com Ficoll-Paque PLUS para separação das células mononucleares. As células foram contadas em câmara de Neubauer, os seus volumes foram ajustados e foram semeadas em placas de cultura, baseando-se em três condições: tipo de placa (12 ou 24 poços), tempo de adesão dos monócitos (duas horas ou overnight) e número de células semeadas (1x10⁶, 5x10⁶). Após os diferentes tempos de adesão o sobrenadante contendo linfócitos foi removido e um novo meio de cultura contendo GM-CSF e IL-4 (50 ng/mL) para diferenciação das Mo-DCs foi adicionado nos poços. Para análise de Mo-DCs maduras, em alguns poços foi adicionado 1 µg/mL de LPS para maturação das células no quinto dia. Após sete dias, as células foram marcadas com os anticorpos monoclonais CD14-FITC, CD209-PE e CD83-APC. Os eventos foram realizados em citômetro de fluxo FACSCalibur. Os resultados foram analisados com o teste estatístico ANOVA de duas vias. **Resultados e Discussão:** O percentual de células CD14+ no tempo de adesão de duas horas foi superior ao obtido no tempo de adesão overnight, nos dois tipos de placa utilizados. Nas adesões de duas horas, o percentual de células CD14+ nos poços contendo 5x10⁶ células foi maior do que nos que continham 1x10⁶, no entanto, quando a adesão foi por overnight, o percentual

de CD14+ se inverte, sendo maior quando foram semeadas em 1x10⁶ células. Não foram encontradas diferenças significantes nas porcentagens dos marcadores CD209 e CD83 em nenhum dos testes realizados. A análise da intensidade de fluorescência (IF) dos mesmos marcadores revelou que a IF de CD14 e CD209 foi maior nas placas de 12 poços comparado a placas de 24 poços quando o tempo de adesão foi de duas horas. Não foram encontradas diferenças nas análises da IF de CD83. **Conclusões:** As melhores condições para cultivo de Mo-DCs foram obtidas nas placa de 12 poços com tempo de adesão overnight e 5x10⁶ células semeadas por poço. No entanto, as outras condições testadas também foram bem sucedidas na geração de Mo-DCs. Por fim, a maturação das DCs parece não ter sido alterada por nenhuma das condições testadas. **Apoio financeiro:** CAPES. **Palavras-chave:** Células dendríticas. Células sanguíneas.

PROJETO: EFEITOS DA EXPOSIÇÃO À IVERMECTINA EM RATOS: ASPECTOS REPRODUTIVOS EM MACHOS E FÊMEAS

MOREIRA, NATÁLIA¹; BERNARDI, MARIA MARTHA²; SPINOSA, HELENICE DE. SOUZA³

¹ Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), São Paulo, Brasil.

² Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Paulista (UNIP), São Paulo, Brasil.

^{1, 3} Departamento de Patologia da FMVZ/USP, São Paulo, Brasil.

Introdução e Objetivos: A ivermectina é uma lactona macrocíclica utilizada para o tratamento de parasitoses na espécie humana e amplamente empregada em medicina veterinária como endectocida. Em mamíferos, diversas evidências indicam que as lactonas macrocíclicas interagem com canais de cloro mediados pelo ácido gama-aminobutírico (GABA). Sabe-se que o sistema GABAérgico está envolvido com a manifestação do comportamento sexual. Já foi constatado que a administração aguda de lactonas macrocíclicas prejudica o comportamento sexual de ratos e que tais efeitos estão associados com o sistema GABAérgico central. Recentemente foi observado, em ratos, que a administração de ivermectina reduziu os níveis de testosterona sem ter interferido com a motivação sexual e a ereção peniana dos machos, contudo prejudicou o comportamento sexual das fêmeas. Assim o presente projeto foi delineado para avaliar os efeitos da ivermectina na esfera reprodutiva de ratos, analisando a função testicular de machos e o ciclo estral fisiológico das fêmeas, bem como, em ambos os gêneros, o perfil hormonal e a expressão de receptores de hormônios sexuais após 24, 48, 72, 120 e 168 horas da sua administração. **Material e Métodos:** Serão utilizados 150 ratos adultos, da linhagem Wistar, machos (n=120) e fêmeas (n=30), provenientes do biotério do Departamento de Patologia (VPT) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP). Nos machos serão efetuadas as avaliações de: morfologia e motilidade do sêmen, contagem espermática, determinação do tempo de trânsito epididimário, bem como, a análise simultânea das membranas plasmáticas, acrossomal e mitocondrial dos espermatozoides com a associação de sondas fluorescentes. Nas fêmeas será analisado o ciclo estral fisiológico. Em ambos os gêneros, serão avaliados o perfil hormonal, a análise histopatológica e imunoistoquímica e a expressão de receptores de hormônios sexuais após 24, 72, 120 e 168 horas da administração de ivermectina. **Apoio financeiro:** CNPq e bolsa da FAPESP ao primeiro autor. **Palavras-chave:** Ivermectina. Ratos. Comportamento sexual animal.

EX VIVO STUDY OF HEMATOPOIESIS IN PROTEIN MALNUTRITION: CHARACTERIZATION OF BONE MARROW STROMAL CELLS IN MICE

SANTOS, ED WILSON; DIAS, CAROLINA; OLIVEIRA DALILA CUNHA DE; HASTREITER, ARACELI; SILVA, GRAZIELA BATISTA DA; BELTRAN, JACKELINE SOARES DE OLIVEIRA; PAREDES-GAMERO, EDGAR JULIAN; BORELLI, PRIMAVERA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade de São Paulo.

Background: Protein Malnutrition (PM) can promotes the modification of hematopoietic tissue, with changes of extracellular matrix components, affecting the evolution of the cell cycle of hemopoietic cells, reducing the production of precursors and hematopoietic cells both in erythroid series and in the number of leukocytes, leading to anemia and leukopenia. In view of these events, it was hypothesized that changes can occur in the formation and establishment of bone marrow stroma, as well as in cells proliferation, differentiation and maturation, resulting in the change in the microenvironment inducing hemopoese, affecting signaling cellular processes and the physiology of stem and progenitor cells. **Material and Methods:** To characterize the populations and the kinetics of stromal establishment it was performed the immunophenotyping and staining (oil red, alizarin red and alkaline phosphatase) of bone marrow stromal cells from C57BL/6 mice at 7, 14, 21 and 28 days of culture. **Results:** The long-term bone marrow culture (LTBMC) profile changes with time, decreasing the mesenchymal cells and hematopoietic (erythroid, megakaryocyte and granulocyte), keeping the same percentage of monocytes/macrophages, and hematopoietic stem cells and increasing the amount adipocytes and osteoblasts. **Conclusion:** Protein malnutrition changes the stromal cellularity in LTBMC, leading to alterations in the homeostasis and maintenance of the hematopoietic stem cell. **Keywords:** Hematopoiesis. Protein malnutrition. Bone marrow. Stromal cells. Mice.

UNPREDICTABLE STRESS IN ADOLESCENT MICE: LONG-TERM EFFECTS ON NEUROCHEMISTRY AND ON BEHAVIOR

LIMA, ANA PAULA¹; REIS-SILVA, THIAGO MARINHO²; SANDINI, THAÍSA MEIRA³; MASSOCO, CRISTINA¹.

1 Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

2 Departamento de Neurociência, Faculdade de Psicologia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

3 Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introduction: Adolescence is one of the most critical period of development and has a great importance to the health of an adult life. Stressors or traumatic events during this period are associated with changes in the development and plasticity of the neuroendocrine system predisposing the individual to psychiatric disorders as related to anxiety or depression. However stress in adolescence is a very discussed topic and there are few studies about the long-term effects of stress during this period. Therefore, this study aims to assess the impacts in adulthood of unpredictable stress during adolescence on behavioral tests. **Methods:** Thirty days old Balb/c male mice (20 g) were subjected to a random pattern of stressful situations twice daily for ten days. Twenty days after the end of the stress protocol when animals are already adults, their behavioral was evaluated in open field test and elevated-plus-maze test. Blood

was collected for analysis of plasma corticosterone. The experiments were performed in accordance with the guidelines of the Bioethical Committee on Care and Use of Laboratory Animal Resources of the School of Veterinary Medicine, University of São Paulo, Brazil (protocol no 4485180614). **Results and discussion:** Unpredictable stress show that treatment affected the weight gain during the stress phase, increased locomotor activity (C = 3.71 ± 0.31; US = 4.66 ± 0.33; p < 0.05), affected plasma levels of corticosterone (C = 0.49 ± 0.02; US = 0.39 ± 0.01; p < 0.05), decreased serotonergic activity on hippocampus (C = 1153 ± 120.5, US = 855 ± 69.37; p < 0.05), hypothalamus (C = 2381 ± 328.9; US = 1563 ± 193.1; p < 0.05), prefrontal cortex (C = 1567 ± 132.4; US = 999.1 ± 97.07; p < 0.05) and striatum (C = 1586 ± 144.8; US = 1017 ± 92.57; p < 0.05) and decreased noradrenergic activity on hippocampus (C = 713.7 ± 36.17; US = 497.3 ± 47.50; p < 0.05) and hypothalamus NOR (C = 2537 ± 334.1; US = 1742 ± 137.5; p < 0.05). More studies are being done in order to better characterize this unpredictable stress model and their consequences for adulthood.

SIGNIFICANTE REDUÇÃO NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA ALÉRGICA PULMONAR EM RATAS LACTANTES

OCHOA-AMAYA, JULIETA E.; MARINO, LARISSA.; TOBARUELA, CHARLA N.; NAMAZU, LILLIAN B.; CALEFI, ATILIO S.; MARGATO, RAFAEL.; GONÇALVES, VAGNER J.; QUEIROZ-HAZARBASSANOV, NICOLLE.; KLEIN, MARIANNE O.; PALERMO-NETO, JOÃO.; LIGEIRO DE OLIVEIRA, ANA P.; MASSOCO SALLES-GOMES, CRISTINA DE O.; FELICIO, LUCIANO FREITAS.

Departamento de Patologia da FMVZ/USP, São Paulo, Brasil.

Introdução: São conhecidos relatos verbais de que mulheres asmáticas durante a lactação apresentam melhoras na resposta alérgica pulmonar. Período em que elas apresentam redução na frequência de crises asmáticas. Durante a lactação ocorrem várias adaptações fisiológicas, como por exemplo, a atenuação às respostas imunes e ao estresse. Seja em relação a estressores tanto fisiológicos ou físicos. Um dos melhores exemplos de resposta atenuada ao estresse é visto nas ratas durante a prenhez tardia e a lactação. **Objetivo:** O presente trabalho analisou a possível interferência da lactação sob a função imune na inflamação alérgica pulmonar. Para entender o funcionamento do sistema foram medidos parâmetros funcionais e bioquímicos num modelo de asma experimental. **Material e Métodos:** Ratas fêmeas de 60-90 dias de idade foram divididas em três grupos: um grupo de virgens sem tratamento e sem alergia pulmonar (grupo N), um grupo de virgens com tratamento de imunização e sensibilização a ovoalbumina (grupo V), e um grupo de lactantes com tratamento de imunização e sensibilização a ovoalbumina (grupo L). Aos dez dias de gestação do grupo L, os animais dos grupos V e L receberam a injeção de ovoalbumina (OVA) mais 10 mg de hidróxido de alumínio dissolvida em PBS na dose de 0,1 mg.Kg-1 sc. No 17º.dia de gestação do grupo L, os animais dos grupos V e L foram submetidos ao booster s.c. com 10 µg de OVA mais 10 mg de hidróxido de alumínio. Sete dias após, foi efetuado o desafio inalatório com OVA 1% em seções de 15 min por três dias consecutivos. 24 h após a última seção de inalação, foi efetuada a contagem total e diferencial de leucócitos do lavado broncoalveolar (BAL) e do lavado medular femoral (FML), medidos os níveis de fator de necrose tumoral α (TNF-α) e interferon gama (IFN-γ) nas suspensões do BAL. No plasma foram medidas as concentrações de corticosterona e catecolaminas. **Resultados:** As ratas do grupo L exibiram uma diminuição na contagem de leucócitos totais no lavado broncoalveolar com diminuição de eosinófilos e de macrófagos com relação ao grupo V. Os animais do grupo L apresentaram maior expressão de IFNγ. As concentrações de corticosterona do grupo L foram menores que as do grupo V. A concentração de noradrenalina do grupo L foi maior que os grupos N e V. **Conclusão:** Fêmeas lactantes apresentam inflamação alérgica

pulmonar de menor intensidade. Isso sugere que a lactação pode proteger as fêmeas asmáticas de crises. Os resultados deste estudo, combinados a outros, apontam a prolactina como um possível sinalizador relevante nesse processo. **Apoio financeiro:** CAPES e FAPESP **Palavras-chave:** Ratos, fêmea. Lactação animal. Inflamação alérgica pulmonar.

AFTER RESTRAINT STRESS, MICE WITH HIGH AND LOW IMMOBILITY TIME HAVE A DIFFERENT NEUROCHEMICAL AND BEHAVIORAL PROFILE

REIS-SILVA, THIAGO¹ M.; LIMA, ANA PAULA²; N, MOREIRA, NATALIA²; CALEFI, ATILIO², S.; SANDINI, THAÍSA³ MEIRA; FLORIO, JORGE CAMILO², BERNARDI, MARIA MARTHA⁴.

1 Neuroimmunomodulation research group, Department of Pathology, School of Veterinary Medicine and Animal Science, University of Sao Paulo, Brazil.

2 Department of Pathology, School of Veterinary Medicine, University of Sao Paulo, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, 05508 270 São Paulo, Brazil

3 Department of Clinical and Toxicological Analyses, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, Av. Prof. Dr. Lineu Prestes, 580, 05508-000São Paulo, Brazil

4 Experimental Environment Pathology Department, Paulista University, Rua Dr. Bacelar, 1212,04026-002, São Paulo, Brazil.
E-mail: thi.mreis@gmail.com

Introduction: High and low immobility on the tail suspension test is a common tool for assessing antidepressant drug effects. However, those parameters might be a natural phenotype present in the mice population and could be selected through behavior evaluation without an induced-drug behavior need. High immobility has been also related to depressed-like behavior, that in humans are characterized by wide range of symptoms, such as anhedonia, anxiety and tiredness. **Material and methods:** Mice with high and low immobility time were selected on the tail suspension paradigm (Bioethical protocol #3925110614) and then tested on different behavioral essays before and after a 2h restraint stress during a three days protocol. Thereafter, the animals were euthanized and brains were collected for analysis of neurochemical profile. **Results:** mice with high and low immobility time differ in the sucrose consumption after 72h of evaluation (P = 0.0127) but shows no differences after the restraint stress (P = 0.8930). Differences were also observed in the time spent in dark zone after restraint stress on the dark/light box test (P = 0.0212). The neurochemical results show a low concentration of serotonin (P < 0.0001), norepinephrine (P = 0.0005) and dopamine metabolite HVA (P < 0.0001) on hypothalamus in the high vs low immobility time mice after restraint stress. The 5HIAA/serotonin turn-over (P = 0.0161), as well as the HVA/dopamine turn-over (P = 0.0072) also showed differences between the different immobility profiles after stress. **Conclusion:** The results demonstrate that different behavioral profiles accessed through behavior selection on the tail suspension test respond differently on behavior before and after restraint stress and the high immobility group showed a neurochemical profile compatible with the impairment observed in depressed-like behavior. **Financial support:** CNPq **Keywords:** Stress. Mice. Behavior, Animal.

EXPOSIÇÃO PROLONGADA A ISOFLAVONA EM RATAS SENESCENTES PROMOVE MELHORA DA RESPOSTA COGNITIVA

SANDINI, THAÍSA MEIRA¹; MARINHO, THIAGO REIS ²; MOREIRA, NATÁLIA³; SPINOSA, HELENICE DE SOUZA³

1 Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo

2 Departamento de Neurociência, Faculdade de Psicologia Universidade de São Paulo

3 Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

Email: thaisasandini@gmail.com

Introdução e Objetivos: Dentre os fitoestrógenos, compostos naturais presentes nas plantas, as isoflavonas (ISOs) são os mais encontrados nas dietas, principalmente nos produtos à base de soja. As ISOs podem agir como agonistas dos receptores de estrógeno (REs), promovendo os efeitos estrogênicos, ou como antagonistas, bloqueando ou alterando os REs e, assim, prevenindo a atividade estrogênica. Atualmente as ISOs, consideradas como moduladores seletivos naturais dos receptores de estrogênio (SERMs), têm sido utilizadas principalmente na falência ovariana (menopausa), onde há uma drástica redução na produção de estrógenos endógenos. Uma série de benefícios tem sido descrita em ratas ovariectomizadas tratadas com ISOs durante a menopausa, no entanto, estudos na esfera comportamental em ratas senescentes ainda são escassos. Nesse sentido, o presente trabalho foi delineado para investigar se a exposição prolongada à isoflavona 40% (90 dias) poderia acarretar o aparecimento de mudanças comportamentais. **Material e Métodos:** Foram utilizadas 40 ratas Wistar com 12 meses de idade, que receberam diferentes doses de ISOs (50, 100 e 200mg/kg/dia) via gavagem durante 90 dias. Durante o tratamento foi avaliado o peso corpóreo, o consumo de água e de ração. Após o tratamento, as ratas foram submetidas ao teste do campo aberto, labirinto em cruz elevado e labirinto de Barnes. **Resultados e Discussão:** Os resultados obtidos não mostraram diferenças significantes no peso corpóreo, bem como, no consumo de água e ração. Não foram observadas diferenças significantes na atividade locomotora verificada no teste do campo aberto e nem alterações na ansiedade observada no labirinto em cruz elevado. Porém, no labirinto de Barnes, foram constatadas diferenças significantes (p<0,05) nas ratas que receberam isoflavona 40% nas três doses utilizadas (50, 100 e 200 mg/kg) versus ratas do grupo controle. **Conclusão:** Em ratas senescentes a administração prolongada de isoflavonas 40%, não causou qualquer sinal de toxicidade sistêmica e melhorou da resposta cognitiva dos animais. **Apoio financeiro:** CAPES e CNPq **Palavras-chave:** Isoflavona. Ratos, fêmea. Comportamento animal.

PADRÃO ULTRASSONOGRÁFICO STARRY SKY HEPÁTICO EM MACACOS-DA-NOITE (AOTUS INFULATUS) ESTÁ ASSOCIADO À PELIOSE HEPÁTICA E INFECÇÃO POR BARTONELLA SP.?

DE SOUZA, ALEX JUNIOR SOUZA^{1,2}; COUTINHO, LEANDRO NASSAR³; DA SILVA, WELLINGTON BANDEIRA⁴; IMBELONI, ALINE AMARAL⁴; MORAES, LEOPOLDO AUGUSTO⁵; GONÇALVES, EVONNILDO COSTA⁵; HAGEN, STEFANO CARLO FILIPO⁶; SOARES, MANOEL DO CARMO PEREIRA²; SÁ, LILIAN ROSE MARQUES DE¹

1 - Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (USP);

2 – Seção de Hepatologia, Instituto Evandro Chagas, Secretaria de Vigilância

em Saúde, Ministério da Saúde (IEC);

3 – Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA);

4 – Centro Nacional de Primatas, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde (CENP);

5 – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Pará (UFPA);

6 – Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (USP)

E-mail: ajrsouza@usp.br

Introdução e Objetivos: O padrão ultrassonográfico starry sky hepático é pouco frequente e de etiologia variada, mas foi associado à peliose hepática que por sua vez foi correlacionada à infecção pela bactéria *Bartonella* spp. em seres humanos imunocomprometidos. Em primatas não-humanos do novo mundo, tanto o padrão ultrassonográfico, como a peliose hepática e a infecção por *Bartonella* spp. são desconhecidas. O presente trabalho avaliou a ocorrência de infecção por *Bartonella* spp. em macacos-da-noite (*Aotus infulatus*) cativos acometidos por peliose hepática e que apresentam padrão ultrassonográfico hepático de starry sky. **Material e Métodos:** Trinta e sete macacos-da-noite (*Aotus infulatus*), adultos, machos, com idades variando de 2 a 15 anos, nascidos e criados no Centro Nacional de Primatas foram submetidos à avaliação ultrassonográfica hepática e em dois animais, por laparotomia, foram coletados fragmentos hepáticos em cunha para exame histopatológico e para detecção molecular de *Bartonella* spp. **Resultados e discussão:** Em 22 animais (59,4%) foi observado padrão ultrassonográfico de starry sky caracterizado por múltiplas áreas hiperecogênicas, medindo de 3,1 a 4,7 mm, disseminadas de distribuição aleatória. Na histopatologia foi observada peliose hepática multifocal, congestão, fibrose perissinusoidal, hemossiderose e esteatose. Molecularmente, as amostras de fígado apresentaram produtos de amplificação com tamanhos próximos ao esperado para *Bartonella* spp. **Considerações finais:** Em macacos-da-noite os resultados preliminares mostraram a presença do padrão starry sky hepático em casos de peliose hepática, mas ainda não permitiram o estabelecimento da associação com a infecção por *Bartonella* sp. **Palavras-chave:** Macaco da Noite. *Aotus infulatus*. *Bartonella* sp. Peliose hepática

PNEUMOPATIAS EM CETÁCEOS DO BRASIL

SÁNCHEZ-SARMIENTO, ANGÉLICA MARÍA (1)*; COSTA-SILVA, SAMIRA (1); FERNANDES, NATALIA C.C.A. (2); GUERRA, JULIANA MARIOTTI (2); SACRISTÁN, CARLOS (1); MACHADO, EDUARDO FERREIRA (1); MARIGO, JULIANA (1); GROCH, KATIA (1); CARVALHO, VITOR LUZ (3); CATÃO-DIAS, JOSÉ LUIZ (1)

(1) Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

(2) Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil. (3) Associação de Pesquisa e Preservação de Ecossistemas Aquáticos (AQUASIS), Caucaia, Ceará, Brasil. E-mail: ang.san.sar@gmail.com

Introdução e Objetivos: Os cetáceos são altamente susceptíveis a infecções respiratórias, que representam uma das causas mais comuns de morbidade em diversas espécies dessa ordem. Além disso, durante algumas infecções sistêmicas, os pulmões são os órgãos mais severamente afetados. Assim, entender os aspectos histopatológicos das pneumopatias em cetáceos, bem como, a sua possível etiologia são pontos importantes para compreensão dos processos patológicos que determinam o óbito desses animais. O presente estudo avaliou e classificou histopatologicamente as lesões pulmonares de

cetáceos que freqüentam a costa brasileira. **Materiais e Métodos:** Foram analisadas amostras de pulmão de cetáceos mantidas no Banco de Tecidos de Mamíferos Marinhos, do Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens (LAPCOM/VPT/FMVZ/USP). As amostras foram coletadas durante a necropsia, fixadas em formalina 10% e coradas com Hematoxilina e Eosina e outras colorações complementares, para a avaliação histopatológica. Foram avaliados 113 indivíduos pertencentes às seguintes espécies: *Pontoporia blainvillei* (n=70), *Sotalia guianensis* (n=13), *Tursiops truncatus* (n=4), *Kogia breviceps* (n=3), *Stenella frontalis* (n=3), *Steno bredanensis* (n=3), *Eubalaena australis* (n=2), *Inia geoffrensis* (n=2), *Kogia sima* (n=2), *Stenella clymene* (n=2), *Stenella longirostris* (n=2), *Delphinus capensis* (n=1), *Globicephala macrorhynchus* (n=1), *Lagenodelphis hosei* (n=1), *Mesoplodon europaeus* (n=1), *Orcinus orca* (n=1) e *Stenella coeruleoalba* (n=1). **Resultados e discussão:** Dos animais estudados 38,9% (44/113) tiveram algum processo pneumônico e a pneumonia broncointersticial foi o mais frequente (19,5%; 22/113), seguido da pneumonia intersticial 17,7% (20/113) e da broncopneumonia 6,2% (7/113). A resposta celular nestes processos foi predominantemente de tipo linfoplasmocítica/histiocítica (23%; 26/113), granulomatosa (11,5%; 13/113) e polimorfonuclear (7,1%; 8/113). Entre as causas primárias se destacaram, a parasitária (8,8%; 10/113), corpo estranho por cristais de colesterol (6,2%; 7/113), bacteriana (1,8%; 2/113), mista (1,8%; 2/113) e sugestivo viral (0,9%; 1/113). Outros achados relevantes incluíram congestão (64,6%; 73/113), edema (52,2%; 59/113), hemorragia (47,8%; 54/113), histiocitose alveolar (10,6%; 12/113), fibrose (9,7%; 11/113), metaplasia óssea reacional (6,2%; 7/113), aspiração agônica (4,4%; 5/113) e calcificação brônquica (0,9%; 1/113). As lesões observadas foram compatíveis com as previamente descritas, confirmando a alta freqüência de ocorrência de pneumopatias nesses animais. **Conclusão:** Os resultados obtidos são preliminares e parciais e o estudo será ampliado com o exame de um maior número de indivíduos e com o emprego de colorações complementares destinadas a melhorar a identificação dos possíveis agentes causais. **Apoio financeiro:** CAPES e FAPESP. **Palavras-chave:** Cetáceos. Pneumopatias. Brasil.

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE CITOCINAS INTESTINAIS EM FRANGOS DE CORTESUBMETIDOS AO ESTRESSE POR CALOR
CALEFI, ATILIO SERSUN; QUINTEIRO-FILHO, WANDERLEY MORENO; CRUZ, DANIEL SANZIO GIMENES; SIQUEIRA, ADRIANA; NAMAZU, LILIAN BERNADETE; FONSECA, JULIANA GARCIA DA SILVA; COSTOLA-DE-SOUZA, CAROLINA; MARGATHO, RAFAEL OLIVEIRA; BORSOI, ANDERLISE; LIMA, ANA PAULA NASCIMENTO; GOMES, CRISTINA DE OLIVEIRA MASSOCO SALLES; FERREIRA, ANTONIO JOSÉ PIANTINO; PALERMO-NETO, JOÃO
Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo

Introdução: O estresse, importante fator limitante para a produção avícola modula a resposta imune e tem sido apontado como um dos principais fatores predisponentes para o desenvolvimento de doenças em frangos de corte. Investigações com a neuroimunomodulação induzida pelo estresse por calor demonstraram que as alterações imunes e neurais ocorrem de forma sistêmica e que são capazes de influenciar a invasibilidade bacteriana e a lesão tecidual intestinal. O presente trabalho quantificou as expressões relativas de citocinas relacionadas as respostas Th1, Th2 e Th17 nos intestinos de animais submetidos ao estresse por calor. **Material e Métodos:** Dez frangos de corte machos, linhagem Cobb 500, foram divididos com um dia de vida em grupos de animais controle e animais estressados por calor. Os animais foram criados em condições de normotermia até os 14 dias de vida. A partir do 15o ao

21o dia de vida os animais do grupo estressado por calor foram submetidos ao aumento da temperatura ambiental a 37oC em intervalos de 12 horas. No 21o dia os animais foram eutanasiados e foram obtidas porções do duodeno, jejuno e íleo destinadas ao procedimento de extração de RNA. O RNA das porções intestinais foi submetido a expressão de citocinas (IFN-alfa, IFN-gamma, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-16, IL-17, TGF-beta, TNFSF-15) e receptores (TLR2 e TLR4) por PCR em tempo real. Para determinação da expressão relativa foram utilizados como controles endógenos os genes beta-actina e GAPDH. Os dados foram analisados pelo teste de análise de variância baseado em permutação seguido pelo teste de TukeyHSD. A análise dos componentes principais foi utilizada para determinação das variações intra e intergrupo. **Resultados e Discussão:** O estresse por calor aumentou de forma significativa a expressão relativa das citocinas IL-1, IL-2, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, TGF-beta, IFN alfa e beta nas porções intestinais e as diferenças entre as médias foram mais acentuadas nas porções intestinais proximais. Os dados concordam com os efeitos de comportamento doente e aumento de citocinas como IL-1. O aumento generalizado das expressões relativas de citocinas foi acompanhado pelo aumento significativo da expressão do TLR4, que não foi acompanhado por diferenças de expressão do TLR2. Tais ativações contribuem para a manutenção da proteção intestinal relacionada a processos infecciosos como os produzidos pelo *C. perfringens* e concordam com a observação de que o estresse por calor reduz o processo infeccioso causado pela *Eimeria* sp. **Conclusões:** O estresse por calor isolado promove o aumento da expressão de citocinas relacionadas ao comportamento doente e de fatores capazes de aumentar a produção e secreção de defensas no epitélio intestinal. **Palavras-chave:** Frangos de corte. Citocinas. Estresse por calor.

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY FOR PARASITE BURDEN IN CANINE VISCERAL LEISHMANIASIS

BATISTA, LUÍS FÁBIO DA SILVA 1; UTSUNOMIYA, YURI TANI 2; DIAS, RAÍSSA DE ANDRADE 1; DA SILVA, THAÍS BRUNA FERREIRA 1; TOMOKANE, THAÍSE YUMIE 1; PACHECO ACÁCIO DUARTE 2; MARCONDES, MARY 2; NUNES, CÁRIS MARONI 2; LAURENTI, MÁRCIA DALASTRA 1

1 Laboratory of Pathology of Infectious Disease, School of Medicine, University of São Paulo, Av. Dr. Arnaldo, 455, Cerqueira César, CEP 01246903, 01246, São Paulo, SP, BR

2 Department of Support, Production and Animal Health; Department of Clinic, Surgery and Animal Reproduction, Universidade Estadual Paulista, Clóvis Pestana, 793, Ipanema, CEP 16050680, 1605, Araçatuba, SP, BR

Leishmania (Leishmania) infantum is the protozoan responsible for visceral leishmaniasis (VL), a neglected zoonosis that affects about 500,000 people a year and may be lethal if not treated. The domestic dog (*Canis lupus familiaris*) is the major reservoir of VL and exhibits highly variable clinical responses. Highly active disease is marked by increased parasite burden and immunosuppression. Here, we sought evidence for loci affecting differences in parasite load of *L. (L.) infantum* in 70 dogs from endemic area genotyped for 173,662 single nucleotide polymorphism (SNP) markers by Illumina® CanineHD BeadChip assay. Exposure to the vector was assumed upon detection of antibodies anti-saliva of the *Lutzomyia longipalpis* sand fly. Absolute parasite burden of *L. (L.) infantum* on aspirative biopsy of lymph node was quantified by real-time PCR. Phenotypes were normalized using a Box-Cox transformation, and the following linear model was applied to the trait: $y \sim \text{mean} + \text{age} + \text{sex} + \text{vaccination} + \text{deltamethrin collar} + \text{origin} + \text{IgG anti-saliva of Lu. longipalpis level}$. The residuals from the fitted model were used as pseudo-phenotypes for the genome-wide association (GWA) analyses, which were

performed using the EMMAX method. Only markers and samples presenting a call rate of at least 90% were considered. Additionally, SNPs with p-value for Hardy-Weinberg Equilibrium exact test lower than 10⁻⁵ and minor allele frequency lower than 5% were removed. Markers were prioritized for investigation based on a significance level of 1 x 10⁻⁶. We observed a gradual rise of parasite load associated with increasing severity of the disease (p < 0.01). A total of 64 dogs and 105,918 SNPs passed all filtering criteria. Six SNPs were declared significant, which were in the vicinity of positional candidates likely involved resistance/susceptibility to *Leishmania* infection, such as: SOD3 on chr3 [-log(p)= 6.914] which encodes an antioxidant enzymes that catalyze the dismutation of two superoxide radicals into hydrogen peroxide and oxygen. TLR4 on chr11 [-log(p)= 6.914] encodes a toll-like receptor which plays a fundamental role in pathogen recognition and activation of innate immunity. TNFSF8 and TNFSF15 on chr11 which encodes the proinflammatory cytokine TNE. DLA-79 on chr18 [-log(p)= 6.479], which encodes MHC class Ib. CXCR4 on chr19 [-log(p)= 6.583] encodes a CXC chemokine receptor and CABIN1 on chr26 [-log(p)= 9.239] which serve as a negative regulator of T-cell receptor (TCR) signaling via inhibition of calcineurin. These findings suggest that genetic control may underlie intensity of *L. (L.) infantum* infection in dogs via immune response. **Supported by** FAPESP (2012/05847-90 and 2012/50285-9), CNPQ, CAPES and LIM-FMUSP. **Palavras-chave:** Leishmaniose visceral. Cães

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE UM ENSAIO RT-PCR SYBR GREEN EM TEMPO REAL PARA A DETECÇÃO DE ASTROVÍRUS DE GALINHA EM AVES COMERCIAIS

NÚÑEZ, LUIS FABIAN NARANJO; SANTANDER PARRA, SILVANA HIPATIA; CHAIBLE, LUCAS MARTINS; SA, LILIAN ROSE MARQUES; DA SILVA, VERA LISA GENEROSA; CARRANZA, CLAUDIA; BUIM, MARCOS; ASTOLFI-FERREIRA, CLAUDETE; FERREIRA, ANTONIO JOSE PIANTINO

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo

Introdução e objetivo: O astrovírus de galinha (CAstV) é um vírus relacionado a síndrome do nanismo e retardo do crescimento (RSS); causa diarreia, nanismo e mortalidade. A RSS tem sido relatada no mundo todo e no Brasil o CAstV está sendo estudado como um dos principais agentes envolvidos na doença. Varias técnicas de diagnóstico têm sido utilizadas para a identificação do vírus como RT-PCR e RT-qPCR em tempo real (RT-qPCR). O presente trabalho foi delineado para desenvolver e avaliar um ensaio de RT-qPCR Sybr Green destinado a identificação e quantificação do CAstV, em galinhas. **Materiais e Métodos:** Uma estirpe de CAstV isolado em ovos embrionados foi inoculada oralmente em 35 pintinhos mantidos por 42 dias em isoladores, a cada sete dias foram coletados duodeno, jejuno e íleo de cinco animais. Um fragmento do gene ORF 1b foi amplificado e clonado, para obter DNA padrão e realizar uma diluição com um número de cópias conhecida, a partir da qual foram realizadas 10 diluições seriadas com fator 10, para determinar os limites de detecção do ensaio. Primers específicos para a detecção do CAstV no RT-qPCR foram desenhados com as sequências obtidas do DNA padrão. O RNA extraído dos fragmentos de intestino foi submetido ao ensaio de RT-qPCR. Resultados: Os animais inoculados apresentaram diarreia e nanismo. A RT-qPCR para a detecção e quantificação do CAstV amplificou um fragmento de 112 pb, e consegui detectar e quantificar partículas virais em diluições contendo 10¹⁰ até 10¹ cópias do plasmídeo, mostrando uma curva com uma eficiência de 114% com um slope de -3,025, e um valor de R² de 0,996. A curva de melting se apresentou limpa, gerando um produto específico de amplificação a 73°C, sem dímeros. Todos os fragmentos do intestino foram positivos para CAstV ao longo do experimento com maior concentração viral

aos sete dias. **Discussão:** A PCR convencional foi muito utilizada para a detecção do CAstV e a maioria de registros do vírus tem sido efetuados com o emprego desta técnica, porém só demonstraram a presença do vírus e a concentração de partículas virais presentes nas amostras. No presente trabalho foi determinada a presença e a concentração do CAstV, com maior rapidez e em concentrações ínfimas. **Conclusão:** O presente trabalho mostra que o RT-qPCR Sybr Green é sensível e específico para a detecção de CAstV e que se apresentou como um instrumento rápido e eficaz para a detecção e quantificação do vírus, com custo inferior ao dos ensaios de RT-qPCR TaqMan. **Apoio Financeiro:** CAPES - CNPq. **Palavras-chave:** Astrovírus de galinha. PCR em tempo real. RT-qPCR Sybr Green.

PADRONIZAÇÃO DE UMA REAÇÃO DE PCR TAQMAN EM TEMPO REAL PARA A DETECÇÃO DO VÍRUS DA LARINGOTRAQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS

SANTANDER PARRA, SILVANA HIPATIA; NÚÑEZ, LUIS FABIAN NARANJO; BUIM, MARCOS; ASTOLFI-FERREIRA, CLAUDETE, FERREIRA, ANTONIO JOSE PIANTINO
Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo

Introdução e objetivos: A laringotraqueíte infecciosa (LTI) é uma doença respiratória altamente contagiosa que causa severas perdas econômicas devido à mortalidade, diminuição da produção de ovos, perda de peso e predisposição a infecções causadas por outros patógenos aviários. Diversas técnicas moleculares são utilizadas para a sua detecção e caracterização entre elas PCR, RFLP, PCR em tempo real (qPCR); sendo esta última mais sensível que os métodos tradicionais. O presente trabalho padronizou uma reação de qPCR TaqMan dirigida para a amplificação do gene da glicoproteína C (gC) visando a detecção do vírus da LTI. **Materiais e Métodos:** Vacinas TCO (Schering Plough) e CEO (Fort Dodge) foram usadas para a padronização da qPCR. A reação de qPCR usando primers e sonda TaqMan específicos para a amplificação do gene que amplifica a gC foi utilizada. Um fragmento do gene que amplifica a gC, foi amplificado e clonado, para a obtenção do DNA padrão e realizar uma diluição com um número de cópias conhecidas, a partir destas foram realizadas 10 diluições seriadas com fator 10, para determinar os limites de detecção do ensaio. Diluições seriadas com fator 10 também foram realizadas com o DNA extraído das vacinas. **Resultados:** A qPCR amplificou um fragmento de 189 pb, e detectou e quantificou partículas virais em diluições contendo 1010 até 101 cópias do plasmídeo, mostrando uma curva com uma eficiência de 98 % com um slope de -3,025 e R²=0,981. No DNA extraído das vacinas foram detectados e quantificados até cinco partículas virais. As curvas de amplificação se apresentaram limpas e sem dímeros. **Discussão:** A rápida detecção do vírus da LTI pode ser de grande ajuda no controle da disseminação do vírus entre lotes vizinhos já que é uma doença altamente contagiosa e que causa grandes perdas econômicas na indústria avícola. A qPCR tem mostrado alta especificidade quando utilizada para a detecção e quantificação de diversos herpesvírus e patógenos aviários, mostrando-se de grande utilidade para o screening de amostras clínicas em estudos epidemiológicos. **Conclusão:** O presente trabalho indica a utilidade da qPCR para a detecção e quantificação do vírus da LTI podendo ser utilizada como método de diagnóstico rápido, mostrando alta sensibilidade e especificidade, detectando poucas partículas virais e com baixo número de casos falsos negativos. **Apoio Financeiro:** CNPq. **Palavras-chave:** PCR em tempo real. qPCR TaqMan. Vírus da laringotraqueíte infecciosa.

PERFIL DE DISSOLUÇÃO DA FORMA ACABADA DO GRÂNULO COMERCIAL DO ALDICARBE (TEMIK®)

FUKUSHIMA A.R.^{1,2}, ANAZAWA, T.A.², LEONI, L.A.B.², GONZALEZ-DOMINGUES, M.V.⁵, NICOLETTI, M.A.⁵ GONÇALVES V.J.¹, BERTAFLGIA, E. B.¹, SIQUEIRA A.¹, FLORIO J.C.³, MAIORKA P.C.⁴, SPINOSA H.S.⁴.

1. Aluno do Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada - Departamento de Patologia - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) - Universidade de São Paulo (USP)
2. Professor da Universidade São Judas Tadeu (USJT)
3. Especialista de Laboratório - Departamento de Patologia - FMVZ-USP
4. Professor - Departamento de Patologia - FMVZ-USP
5. Professor da Universidade de Guarulhos (UNG)

Introdução: O aldicarbe, Temik150® (Bayer Cropsciences), vulgarmente conhecido como chumbinho, foi comercializado no Brasil até o ano de 2012, quando teve seu registro cancelado em função do seu uso ilícito como raticida, o que favorecia a ocorrência de intoxicações graves e fatais em animais não alvo, e até mesmo em seres humanos. Durante as análises do conteúdo estomacal de animais intoxicados e necropsiados pelo Serviço de Patologia Animal do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP) é comum o encontro de grânulos semelhantes ao praguicida, que após a análise toxicológica sistemática apresentam, positividade para aldicarbe. As análises utilizando conteúdo estomacal de animais, curiosamente detectaram também os seus metabólitos aldicarbe sulfóxido que apresenta dose letal 50% (DL₅₀) oral para ratos de 0,49mg/kg e aldicarbe sulfona que apresenta DL₅₀ oral para ratos de 27,0mg/kg, sendo que o primeiro metabólito é 10 vezes mais tóxico que o próprio aldicarbe (DL₅₀ oral para ratos de 5,0mg/kg). **Objetivo:** o presente trabalho avaliou a cinética de liberação do princípio ativo tóxico da forma acabada dos grânulos de Temik150®, utilizando o perfil de dissolução, a fim de avaliar a formação in vitro de seus metabólitos em meio ácido. **Material e métodos:** Foram avaliados os grânulos de Temik150® adquiridos no comércio. Para o perfil de dissolução foi utilizado um aparelho de dissolução Varian modelo VK7010 Dissolution System, equipado com seis cubas; cada cuba recebeu 900mL de ácido clorídrico 0,1N, a pH 3,0. O cromatógrafo foi um Agilent modelo 1200 Series High G1316A, e detector de arranjo de diodos. Foi utilizada uma coluna Zorbax Extend C18, 150X4,6mm. O volume de injeção foi de 50µL, a fim de evitar sobrecarga da coluna. O comprimento de onda selecionado para a quantificação foi de 213nm. A fase móvel utilizada foi composta por acetoneitrila e água utilizando o modo de eluição gradiente. **Resultados e discussão:** O método para separação cromatográfica produziu uma separação adequada dos analitos com resolução suficiente, tanto para identificação quanto quantificação de compostos. O perfil de dissolução dos grânulos do Temik150® em meio ácido mostrou a presença in vitro dos metabólitos aldicarbe sulfóxido e o aldicarbe sulfona, enquanto o aldicarbe para análise não mostrou a produção de metabólitos. Considerando que o aldicarbe sulfóxido apresenta maior toxicidade que a molécula de origem, este achado deve ser considerado quando se avalia a toxicidade deste praguicida. **Conclusões:** O método empregado apresentou potencial para elucidação da questão e que o metabólito do aldicarbe deve ser considerado como agravante nos quadros de intoxicação por Temik 150®. **Palavras-chave:** Aldicarbe. Chumbinho. Grânulos de Temik150®.

PROJETO EM ANDAMENTO: CONCENTRAÇÕES DE MERCÚRIO EM SANGUE DE TARTARUGAS VERDES (CHELONIA MYDAS) CAPTURADAS NA COSTA BRASILEIRA: RESULTADOS PRELIMINARES

PRIOSTE, FABIOLA ELOISA SETIM ROSSI; GATTAMORTA SILMARA; QUEIROZ, MARCO AURÉLIO, ALCALA, MARIANA RAMOS, SOUZA, MARINA MOLINAS, OLIVEIRA, VANESSA CRISTINA DE; BARBOSA JR, FERNANDO; MATUSHIMA, ELIANA REIKO
Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Introdução: A Chelonia mydas é uma tartaruga marinha com ampla distribuição global, ocupando mares entre 400N e 400S de latitude. A espécie é considerada ameaçada de extinção pela International Union for Conservation of Nature e vulnerável pelo Instituto Chico Mendes de Biodiversidade. A diminuição de suas populações tem sido atribuída ao desenvolvimento da costa litorânea, captura incidental na pesca, consumo humano, mudanças climáticas, poluição e patógenos. Muitos estudos têm sido conduzidos nestes animais para detectar e mensurar metais tóxicos, assumindo-se que os mesmos tenham um papel relevante na redução das populações. Neste contexto, o presente trabalho determinou a concentração de mercúrio, elemento altamente tóxico em todos os vertebrados capturados. **Material e Métodos:** Foram examinadas amostras de sangue de 144 animais dos quais 48 provenientes de Vitória/ES; 40 de Fernando de Noronha/PE; 48 de Ubatuba/SP e nove de Almofala/CE. Em cada animal foi colhido 1 mL de sangue do Sinus Venoso Cervical. As tartarugas foram liberadas imediatamente após a colheita. As amostras foram acondicionadas em tubos Vacuette® Trace Elements Heparin Sodium e mantidas no freezer (-80°C) até análise. **Análise toxicológica:** As amostras foram analisadas em um Espectômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) operado com Argônio de alta pureza (99,99%, Praxair, Brasil). **Análise Estatística:** Os resultados preliminares consistem em média e desvio-padrão realizados em Excel 14.0 (Office2010)®. **Resultados e Discussão:** As médias e desvio-padrão expressos em (µg/L) apresentadas respectivamente para cada ponto de coleta de amostras foram: Vitória/ES (11,38/18,27); Fernando de Noronha/PE (0,23/ 0,28); Ubatuba/SP (26,59/40,13); Almofala/CE (6,38/6,53). Os resultados obtidos, ainda que preliminares, sugerem que em águas continentais (Vitória/ES; Ubatuba/SP e Almofala/CE) os animais apresentam uma carga de contaminação pelo elemento mercúrio mais elevada que os que se encontram em águas oceânicas (Fernando de Noronha) e que os animais com hábitos costeiros que se alimentam em áreas urbanizadas e antropizadas (Vitória/ES e Ubatuba/SP) apresentam uma carga maior de mercúrio do que aqueles que se alimentam em regiões com menor densidade humana (Almofala/CE). **Conclusões:** As tartarugas-verde podem ser utilizadas como sentinelas do ambiente marinho indicando o grau de contaminação oceânica nas áreas em que são encontradas se alimentando. Testes estatísticos mais específicos serão utilizados considerando o tamanho dos animais, para a elucidação da bioacumulação do mercúrio e as amostras com maiores índices deste elemento serão testadas para a especiação. **Palavras-chave:** Tartarugas verdes. Chelonia mydas. Metais pesados. Intoxicação por mercúrio.

HISTOLOGICAL ASSESSMENT OF THE PHYTOHEMAGGLUTININ (PHA) SKIN TEST AS A METHOD TO EVALUATE INFLAMMATORY RESPONSE AND CELL MEDIATED IMMUNITY IN MAGELLANIC PENGUINS (SPHENISCUS MAGELLANICUS)

RUOPPOLO, V.1; RIBEIRO, J. D.2,3; VANSTREELS, R. E. T.1; HURTADO, R.4; PEDRON, B.5; CORTOPASSI, S. R. G.5; CATÃO-DIAS, J. L.1
E-mail: vruoppolo@usp.br
Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Introduction and Objectives: To quantify cell-mediated immunity in immunoeology the phytohaemagglutinin-induced skin-swelling test is one of the most employed assays, especially for wild birds. The PHA induced skin swelling is the most widely used method to measure cell-mediated immunocompetence in birds. The objective of this study was to contribute to understanding the factors that modulate susceptibility, pathogenesis and severity of infectious diseases and inflammatory response in Magellanic penguins through evaluation of an immunological test that can measure cellular responses. **Material and Methods:** Twenty-one captive Magellanic penguins received a single injection of PHA. The injection site was the interdigital membrane between the proximal inter-phalangeal joints of the third and fourth digits. Thickness of the interdigital membrane at the injection site was measured on both feet using a digital thickness gage, pre and post-injection for the different sampling intervals (Group A = 6 hours; Group B = 24 hours; Group C = 48 hours). Post-fast (15h), penguins were subjected to mask-induced respiratory anesthesia to obtain tissue biopsies and blood samples. Blood smears were fixed in methanol and stained with Wright-Rosenfeld for differential leukocyte counts. Packed cell volume and total plasma protein were determined. Biopsy samples were fixed in 10% buffered formalin for 18 hours and transferred to 70% ethanol. Tissues were embedded in paraffin, and 5 µm sections were stained with hematoxylin-eosin. Photomicrographs of the histological sections were obtained under light microscopy and analyzed using ImagePro Plus to determine the inflammatory cell pixel ratio (ICPR). For each group, paired t-tests, ANOVA with Tukey post-hoc test, and linear regression analyses were used to evaluate whether quantitative and qualitative variables were correlated. **Results and Conclusion:** Both PHA-injected and control-injected feet resulted in a significant difference in foot web thickness before injection and biopsy. The ICPR varied amongst treatments, and differential histological counts did not reveal significant differences in the relative frequency of granulocytes, lymphocytes, macrophages or thrombocytes between PBS- and PHA-injected feet in any of the treatment groups. While our results corroborate that injecting PHA to the foot web of Magellanic penguins does cause a significant and measurable swelling that is consistently stronger than that caused by the injection of PBS, we did not find evidence that this swelling can be attributed to a specific immune process or cell population. Results indicate the swelling is an across-the-board increase in inflammatory cells and in other dermal tissue and interstitium. **Financial Support:** FAPESP 2010/51801-5 **Keywords:** Phytohemagglutinin. Penguins.

ANÁLISE IMUNOISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO DE PCNA, BAX E BCL-2 EM CÓRTEX ADRENAL DE CÃES E SUA RELAÇÃO COM O ESTRESSE PROLONGADO GERADO POR DOENÇAS CRÔNICAS

SALVAGNI, F.A.; DE SIQUEIRA, A.; MARIA, A.C.B.E.; MAIORKA, P.C. CPF dos autores: Salvagni, F.A.: 346.814.888-79 De Siqueira, A.: 179.542.958-50 Maria, A.C.B.E.: 328.879.198-65 Maiorka, P.C.: 514.093.720-49 Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Introdução: As glândulas adrenais respondem ao estresse pela ativação dos eixos hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA) e simpático-adrenérgico-medular (SAM). O estresse sobre o organismo pode ser gerado não só por fontes externas, mas também por doenças crônicas. O aumento da liberação de adrenocorticotrofina (ACTH) leva ao aumento na produção e liberação de cortisol pelas células do córtex adrenal, além da hipertrofia e hiperplasia destas células, principalmente em estímulos prolongados. Por outro lado, algumas doenças podem estimular a apoptose nas células do córtex adrenal. O objetivo deste estudo é avaliar, através da marcação imunohistoquímica (IHQ) de PCNA, BAX e Bcl-2, a proliferação celular e a apoptose em córtex adrenal de cães que foram submetidos ao estresse prolongado por doenças crônicas. **Material e métodos:** Foram colhidas as adrenais de 44 cães submetidos à necropsia na FMVZ-USP, dos quais 16 foram submetidos a estresse agudo prévio ao óbito, sendo previamente saudáveis ou acometidos por doenças agudas e 30 cães vieram a óbito em decorrência de complicações de doenças crônicas. Os cães foram divididos em grupo A e grupo B, respectivamente. Os cortes das adrenais foram submetidos a protocolos de rotina para marcação IHQ por PCNA, BAX e Bcl-2. O nível de significância adotado para a análise das marcações foi de 0,05. **Resultados e discussão:** A marcação IHQ para PCNA foi observada em maior intensidade nas regiões glomerulosa e fasciculada do córtex adrenal, compatível com a manutenção normal da população celular da glândula. Não houve diferença entre o percentual de células corticais em proliferação entre os grupos A e B, assim como entre os sexos e as diferentes faixas etárias. A marcação IHQ para BAX e Bcl-2 também não apresentou diferenças entre os dois grupos, entre os sexos e entre as diferentes faixas etárias. A marcação mais intensa para BAX foi visualizada na zona fasciculada e, ocasionalmente, em zona reticulada e próxima a nódulos hiperplásicos, enquanto a marcação para Bcl-2 foi vista com maior intensidade na zona glomerulosa e ocasionalmente em nódulos hiperplásicos. **Conclusões:** Os índices de proliferação e apoptose das células do córtex adrenal de cães não apresentaram potencial para uso como marcadores dos efeitos do estresse por doenças crônicas sobre as adrenais. Apesar de tais efeitos serem relatados em estudos experimentais efetuados em ratos, a população canina amostrada neste estudo buscou uma representação mais próxima da realidade. Desta forma, são recomendados estudos futuros em populações homogêneas de cães submetidos às mesmas condições estressoras, para a pesquisa de possíveis alterações mais sutis nas glândulas adrenais destes animais. **Apoio financeiro:** FAPESP (processo n. 2013/23645-4), CAPES e CNPq. **Palavras-chave:** Imunohistoquímica. Córtex adrenal. Cães. Estresse. Doença crônica.

QUALITY ASSESSMENT AND QUALITY CONTROL OF NEXT-GENERATION SEQUENCING FOR LEISHMANIA INFANTUM

GUERRA, JULIANA MARIOTTI¹; FERNANDES, NATÁLIA COELHO COUTO DE AZEVEDO¹; BARBOSA, JOSÉ EDUARDO DE RAEFFRAY¹; TANIGUCHI, HELENA HILOMI¹; HIRAMOTO, ROBERTO MITSUYOSHI¹; TOLEZANO; JOSÉ EDUARDO¹; COGLIATI, BRUNO². 1. Instituto Adolfo Lutz (IAL).

2. Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (FMVZ-USP) E-mail: jumariotti.vet@gmail.com

Introduction: Next-generation sequencing (NGS) technologies are becoming widely used, and although a massive number of sequences can be generated in a single experiment, it is still important to characterize the reads. Characterizing reads may prevent undesirable outcomes in the assembly or mapping processes. Discarding low-quality reads, controlling for contamination, and trimming adaptor sequences are examples of preliminary quality control procedures that can be applied to raw reads before further analysis. Here it was applied the FastQ Quality Control Software (FastQC) in order to assess the quality of the data of next-generation sequencing for *Leishmania infantum*. **Methods:** Eight *L. infantum* isolates were obtained from dogs with visceral leishmaniasis, living at São Paulo State. Complete genomic DNA was extracted using GE Healthcare Illustra™ Tissue e Cells genomic Prep Mini Spin Kit. DNA quantity and quality was assessed by NanoDrop™ (Thermo Scientific) and Qubit™ Fluorometer (ThermoFischer Scientific). Shotgun sequenced was performed using Ion PGM™ System according manufacturer instructions. **Results and discussion:** A total of 21 Gb of sequence was generated for the eight lines using the Ion Torrent platform; a mean of 2.701 million reads per run. The sequence read lengths ranged from 25-386 bp size, and the median sequence length was 193,37 pb. FastQC results further revealed good FastQC scoring results for basic statistic, per sequence quality score, per base N content, sequence duplication levels and over presented sequences; warning FastQC scoring results for per base CG content and sequencing length distribution; bad FastQC scoring results for per base sequence quality and Kmer content. Using the expected GC content distribution from *L. infantum*, the GC distributions for the reads for each line were examined: The median was 0.42, but poor-quality ones had lower values. **Conclusion:** The original data and trimmed summaries are reported within a variety of graphics and reports, providing a simple way to do data quality control and assurance. **Financial support:** PPSUS/FAPESP No. 12/51267-4; Edital Universal/CNPq (459489/2014-3). **Keywords:** *Leishmania infantum*. Next-generation sequencing.

ESTUDO RESTROSPECTIVO DE EXAMES ULTRASSONOGRÁFICOS EM CALOPSITAS COM AUMENTO DE VOLUME ABDOMINAL

GUIMARÃES, MARTA BRITO; PHILADELPHO, NATÁLIA AZEVEDO.; KANAYAMA, LUCIANE MARIA; FERREIRA, ANTONIO JOSÉ PIANTINO, HAGEN, STEFANO CARLO FELIPPO Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

As peculiaridades anatômicas das aves: presença de sacos aéreos e o reduzido tamanho de algumas espécies são fatores limitantes para o emprego de métodos de diagnóstico que utilizem a ultrassonografia. Entretanto existem diversas aplicações importantes, como por exemplo o diagnóstico para o aumento de volume abdominal. Neste estudo retrospectivo, realizado entre os anos de 2011 a 2015, foram analisados exames ultrassonográficos realizados no Serviço de Diagnóstico por Imagem, de calopsitas atendidas no Ambulatório de Aves, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Durante este período, 43 calopsitas foram submetidas ao exame, das quais 22 (51%) filhotes de até um ano de idade e 21 (49%) adultas. Vinte animais eram fêmeas. Todas as aves filhotes apresentaram dilatação de alças intestinais. Nas aves adultas foi constatado dilatação em alças intestinais (6/21) e tumor e/ou alteração em sistema reprodutor (15/21). Psitacídeos filhotes são

mais susceptíveis a parasitas intestinais e fungos de trato gastrointestinal, desta forma, o aumento de volume abdominal muitas vezes pode estar relacionado à dilatação de alças intestinais. Entre as aves adultas, a maioria dos diagnósticos estava relacionada ao trato reprodutor ou a tumor. O exame ultrassonográfico não conseguiu identificar a origem dos tumores, limitação atribuída tanto ao tamanho das aves como pela limitação que os sacos aéreos trazem para este exame. No entanto, calopsitas fêmeas adultas possuem elevado índice de problemas em sistema reprodutor ligados a ovo retido, ovo peritonite, cistos ovarianos ou de oviduto, salpingite e tumores em ovário e oviduto. Portanto, os casos analisados revelaram que nas aves filhotes predominaram quadros de enterites acompanhados de dilatação intestinal, enquanto que em calopsitas adultas fêmeas houve uma maior frequência de alterações ligadas ao sistema reprodutor. Esta casuística auxilia tanto o clínico quanto o ultrassonografista na presunção de possíveis diagnósticos em cavidade celomática de calopsitas. **Palavras-chave:** Calopsitas. Ultrassonografia. Aumento de volume abdominal.

SHIGA TOXIN-PRODUCING ESCHERICHIA COLI (STEC) IN PSITTACINE BIRDS: MOLECULAR CHARACTERIZATION, PHYLOGENETIC ANALYSIS AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY

GIOIA-DI CHIACCHIO, ROSELY MARTINS¹; CUNHA, MARCOS PAULO VIEIRA¹; STURN, REGIANE MARQUES¹; PEREIRA, CAMILA BUENO PACHECO²; MARTINS, FERNANDO HENRIQUE²; FRANZOLIN, MARCIA REGINA²; PIAZZA, ROXANE, MARIA FONTES²; GÓRNIAC, SILVANA LIMA¹; KNÖBL, TEREZINHA¹

1. Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP).
2. Instituto Butantan – Laboratório de Bacteriologia.

Introduction: Among the psittacidae bred as pets, the cockatiels (*Nymphicus hollandicus*), agapornis (*Agapornis* spp.), and budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) stand out, because they keep people company, and have a colorful plumage, although the zoonotic risks are little known. *Escherichia coli* (*E. coli*) is a facultative anaerobic Gram-negative bacterium belonging to the Enterobacteriaceae family. Some *E. coli* pathotypes are considered as diarrheagenic, and the molecular techniques are useful in identifying the genetic traits of virulence. The agent does not belong to the microbiota of psittacidae. This study investigated the presence of STEC (diarrheagenic Shiga toxin-producing *E. coli*) in the feces from cockatiels, budgerigars, and agapornis. **Material and Methods:** feces samples were collected with the help of sterile swabs from 171 birds living in the city of São Paulo: cockatiels (n=67), budgerigars (n=59), and agapornis (n=45). The material was transported to the laboratory under refrigeration, then cultured and identified. Forty two *E. coli* colonies were isolated and in them it was performed the investigation of genes eae, stx1, and stx2 through PCR. In the strains identified as STEC, the antimicrobial resistance profile was determined by the disc diffusion method and phylogenetic analysis, according to the new Clermont phylotyping method, which classifies the strains into groups: A, B1, B2, C, D, E and F. **Results and Discussion:** The results classified 8/42 (19.4%) strains as STEC, positive for genes eae and stx2, with three being isolated from cockatiels (3/67) and five from budgerigars (5/59). The results revealed a 4.6% frequency of STEC (8/171), with a percentage of 8.47% in budgerigars (5/59), 4.47% in cockatiels (3/67), and 0% in agapornis (0/45). Most of the strains were classified as sensitive to the 18 tested antibiotics, belonging to eight different classes. Among the cockatiel isolates, only one Sulfamethoxazole-trimethoprim-resistant strain was observed. The

budgerigar isolates were resistant to Sulfamethazine (1/5) and Streptomycin (1/5). No multiresistance profile was observed. In the phylogenetic analysis, 2/8 were classified as non-typeable, 3/8 as B2, 2/8 as F, and 1/8 as Clade I. Strains having genotypic profile stx2 + eae are usually associated with severe diseases of human, such as hemorrhagic colitis and hemolytic-uremic syndrome. : The STEC-positive results indicated that the maintenance of psittacidae in home environments could be a condition with zoonotic risk. **Keywords:** *Escherichia coli*, STEC, Psittacidae, Zoonosis. Support: CAPES.

PROJETO: INFECÇÃO OU DOENÇA NOS ANFÍBIOS SOBREVIVENTES DA COSTA RICA: DIAGNOSTICANDO QUITRIDOMICOSIS NO NEOTRÓPICO

ALVARADO, GILBERT^{1,9}; FORZÁN; MARÍA^{2,3}; PUSCHENDORF, ROBERT⁴; ARAYA, JUAN JOSÉ⁵; PINTO, ADRIÁN⁶; GONZÁLEZ, SARA⁷; MORALES, JUAN ALBERTO⁸; CATÃO-DIAS, JOSE LUIZ⁹
1. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica (UCR), San José, Costa Rica.
2. Department of Pathology & Microbiology, Atlantic Veterinary College, University of Prince Edward Island (UPEI), Canada Prince Edward Island, Canada.
3. Canadian Wildlife Health Cooperative, Atlantic Region, Atlantic Veterinary College, University of Prince Edward Island (UPEI), Canada Prince Edward Island, Canada.
4. School of Biological Sciences, Plymouth University, Plymouth, United Kingdom.
5. Centro de Investigaciones en Productos Naturales (UCR), San José, Costa Rica.
6. Centro de Investigación en Estructuras Microscópicas (UCR), San José, Costa Rica.
7. Laboratorio de Ensayos Biológicos (UCR), San José, Costa Rica.
8. Servicio de Patología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.
9. Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens. Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Introdução: Nas últimas décadas, os anfíbios tem apresentado um padrão de declínio populacional extremamente alarmante. Decorridos mais de 25 anos de estudos sobre os fatores responsáveis por este fenômeno, ainda há muitas dúvidas sobre a sua verdadeira causa. No final dos anos noventa foi aventada a hipótese de que o problema fosse ocasionado pela infecção pelo fungo quitridio *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd); no entanto, até o presente, esta condição ainda não foi confirmada. A Costa Rica é um dos epicentros deste fenômeno onde muitas espécies nativas desapareceram e algumas foram declaradas extintas. Contudo, na atualidade, neste país, ainda há algumas populações remanescentes que permitem a análise das características que possibilitaram a sua sobrevivência. Ao longo dos últimos anos, a infecção pelo Bd tem sido exaustivamente investigada quanto à sua distribuição geográfica, taxonômica e temporal, mas pouco foi realizado para o esclarecimento da sua patogênese. **Material e métodos:** O presente trabalho foi delineado para comparar as condições anatomo-patológicas, clínico-patológicas e metabólicas da doença e infecção em *Lithobates vibicarius* e *Lithobates taylori* experimentalmente infectados com Bd. Estas duas espécies foram selecionadas com base em seu tamanho corporal, relativa facilidade de captura e por apresentarem relações distintas de sobrevivência frente à quitridiomicose. Cada rã será colocada num recipiente de plástico individual (70X95X150 mm³) para seu transporte e subsequentemente serão mantidas em recipientes de plástico individuais (230X230X350 mm³) em amplitudes de temperatura (18-20 ° C) e ciclos de luz (12 h luz / 12 h escuro) controlados e estabelecidos junto ao Laboratório de

Ensayos Biológicos (UCR) e segundo as normais internacionais de bem-estar animal e aprovadas pelas respetivas comissões de ética no uso de animais da FMVZ-USP e CICUA-UCR. Após período de adaptação ao cativeiro, os animais serão infectados experimentalmente e os dados colhidos serão avaliados em função dos achados anátomo-patológicos, clínicos-patológicos e metabólicos. **Resultados esperados:** Estabelecimento de padrões normais para as três variáveis nas duas espécies e identificar as diferenças existentes entre as duas espécies: a que sofreu severo declínio (*Lithobates taylori*) e a que parece ter mantido populações estáveis ao longo do tempo (*Lithobates vibicarius*). **Conclusões:** Serão avaliados aspectos dos mecanismos de defesa de uma espécie hospedeira frente à infecção por patógeno que é considerado como responsável pelo declínio populacional de anfíbios. **Apoio financeiro:** UCR, CAPES, APANAJUCA-CR. **Palavras-chave:** Anfíbios. Costa Rica. Quitridiomycosis. *Lithobates vibicarius*. *Lithobates taylori*.

FLOW CYTOMETRY ANALYSIS OF PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTE POPULATIONS IN THREE NEOTROPICAL SNAKE SPECIES

CARVALHO, MARCELO PIRES NOGUEIRA¹; QUEIROZ-HAZARBASSANOV, NICOLLE GILDA TEIXEIRA¹; GOMES, CRISTINA DE OLIVEIRA MASSOCO SALLES¹; ROSSI, SILMARA²; SANT'ANNA, SÁVIO STEFANINI³; CATÃO-DIAS, JOSÉ LUIZ¹; GREGO, KATHLEEN FERNANDES³.

¹ Department of Pathology, School of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo (USP).

² Luiz de Queiroz College of Agriculture and Center of Nuclear Energy in Agriculture University of São Paulo (USP).

³ Laboratory of Herpetology, Butantan Institute.

Inflammatory processes are known to protect vertebrates from injuries and infections. However, from an immunological perspective the role of granulocytic and mononuclear leukocytes in snakes' inflammatory process is poorly understood. In this context, leukocyte classification in these animals is not clearly defined, with authors disagreeing on existent cell types and their classification. Published data on reptilian leukocytes classification differentiates them into five cell groups: lymphocytes, azurophils, heterophils, basophils and monocytes. Nonetheless, the presence of eosinophils in the peripheral blood of snakes is occasionally described; their existence has not been proved in many species, except in *Ophiophagus hannah* and *Naja naja*. Azurophils are another leukocyte type in regard to classification. Some authors believe that these cells are merely immature monocytes, while others consider azurophils as cells with unique characteristics and roles, present only in reptiles with lesser numbers in lizards, chelonians and crocodylians, but greater numbers in snakes. Due to the great variation of snakes' leukocytes on cytochemistry, an analysis focused exclusively on optical morphology is insufficient to determine different cell types. Thus, additional studies and methods, as flow cytometry, are important to better understanding the function and origin of each cell type. The objective of this research was to adapt leukocyte density gradients for snake blood samples, and characterize recovered cells based on size, presence of granules and internal complexity by flow cytometry, enabling the qualitative and semi-quantitative assessment of cells constituting the immune system of *Boa constrictor*, *Bothrops jararaca* and *Crotalus durissus*. Blood samples were collected in tubes containing sodium heparin from 30 snakes (10 of each species: five male, five female). Thus, the fresh blood was centrifuged in the presence of either two commercial density gradients: Ficoll-Paque PLUS® and Percoll®. After centrifugation, leukocytes were recovered and analysed according to size and internal complexity by flow cytometry. Comparison between gradient methods for leukocyte isolation did not show any difference

(Kruskal-Wallis-Dunns, $p > 0.05$). Flow cytograms did not evidence differences in the populations distribution between snakes of the same species, especially for mononuclear cells (Skewness and Kurtosis statistical test). When verified by means of flow cytometric cell sorting and confirmed by optical microscopy, populations were mainly composed of small lymphocytes, large lymphocytes, azurophils and heterophils. The investigation identified cell populations and established leukocyte cytograms for these snakes allowing functional and diagnostic assays through flow cytometry. **Keywords:** Cytometry. Neotropical snake. Leukocyte.

LIPOLISSACARÍDEO INDUZ COMPORTAMENTO DOENTIO EM RATAS LACTANTES, DIMINUI A VOCALIZAÇÃO ULTRA-SONICA E EXACERBA A ATIVIDADE DO SISTEMA IMUNOLÓGICO NOS FILHOTES MACHOS

NASCIMENTO, AMANDA¹; ALVES, GLAUCIE¹; MASSOCO, CRISTINA¹; TEODOROV, ELIZABETH³; FELÍCIO, LUCIANO¹; BERNARDI, MARIA MARTHA².

¹ Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo

² Programa de Pós-Graduação de Meio Ambiente e Patologia Experimental e Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista, UNIP, São Paulo

³ Centro de Matemática, Computação e Cognição da Universidade Federal do ABC, Santo André, Brasil

Objetivo: Foram analisados os efeitos do lipopolissacarídeo (LPS) sobre o comportamento materno durante a lactação e as suas possíveis correlações com alterações no emocional e na resposta imunológica na prole de ratas. **Métodos:** Ratas lactantes receberam 100 ug / kg de LPS i.p, ou solução salina no terceiro dia de lactação (LD₃). A atividade geral e o comportamento materno foram registrados no LD₅, dia em que houve o pico de febre. Nos filhotes machos, os parâmetros hematológicos e as vocalizações ultra-sônicas (USVs) foram avaliados no LD₅. No desmame, foi administrada uma dose adicional de LPS (50 ug / ug, ip) em filhotes machos nos quais foi efetuada a avaliação do comportamento em campo aberto e o burst e a fagocitose de leucócitos. **Resultados:** Foi observada a redução no tempo para recuperação do primeiro filhote contudo não houve qualquer efeito sobre comportamento agressivo e materno. No LD₅, foi constatada a redução na frequência de USVs, mas não foram encontrados sinais de inflamação. Ao desmame, foi observado aumento na atividade do sistema imunológico porém sem a ocorrência de diferenças em campo aberto. **Conclusão:** Os resultados obtidos indicaram que a inflamação em mães lactantes pode alterar a interação mãe/filhote e pode ter produzido, a curto e longo prazo, efeitos sobre o comportamento dos filhotes, bem como nas vias biológicas que modulam as suas respostas inflamatórias quando desafiados com endotoxina bacteriana. **Apoio financeiro:** CAPES. **Palavras-chave:** Lipopolissacarídeo. Comportamento animal. Ratos, fêmeas. Sistema imunológico.

ESTUDO PRELIMINAR DO PERFIL FITOQUÍMICO DA SENNA OCCIDENTALIS SUBMETIDA OU NÃO AO ESTRESSE TÉRMICO

MENDES, PATRÍCIA FRANCISCONE¹; GREGÓRIO, LUIZ ELIDIO²; HUEZA, ISIS MACHADO^{3,1}.

¹ Laboratório de Farmacologia e Toxicologia, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, FMVZ - USP, SP

² Laboratório de Insumos Naturais e Sintéticos, Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP - Campus Diadema, SP;

³ Laboratório Multidisciplinar em Saúde e Meio Ambiente, Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP - Campus Diadema, SP; CPF: 106.128.488-33. E-mail: patfmendes@usp.br

Introdução e Objetivos: A *Senna occidentalis* (So) é uma planta das Américas de destaque dentre as plantas tóxicas de interesse para a pecuária, pois ao contaminar grãos utilizados no arraçoamento animal, pode ocasionar perda de peso e miopatias. Na sua composição química há predominância de antraquinonas; porém, considerando a heterogeneidade da composição química dentro de uma mesma espécie vegetal e que o aquecimento das sementes pode promover a diminuição da atividade tóxica da planta o presente trabalho foi delineado para avaliar o efeito do estresse térmico na caracterização química das sementes de So, submetendo-as ou não ao estresse térmico. **Material e Métodos:** Sementes de So foram coletadas em março de 2006, de uma cultura no Mato Grosso do Sul (voucher n°SP-363817). Para a moagem, as sementes foram congeladas em nitrogênio líquido e pulverizadas em liquidificador profissional para evitar aquecimento da amostra que permaneceu alíquotada e congelada a -20°C até o momento do uso. Para simular o estresse térmico, uma alíquota foi descongelada e mantida durante 1h30min a 100°C em estufa. Cem miligramas das amostras do pó de So submetidas ou não ao estresse térmico foram extraídas por maceração com 5mL de metanol grau HPLC durante 1h. Os extratos foram filtrados em filtros de seringa de 0,22µm com 13mm de diâmetro. Os experimentos foram realizados em triplicatas utilizando cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC – High Performance Liquid Chromatography) equipado com detector de arranjo de diodos, injetor automático e forno de colunas, com bomba quaternária modelo Accela 600. O software ChromQuest 5.0 foi usado para análise de dados. Para a eluição isocrática a 25°C foi usada uma coluna (Phenomenex®) modelo Luna de 3µm, C18(2), 100Å, 150mm X 4,6mm, protegida por pré-coluna do mesmo fabricante. Para fase móvel foi utilizado metanol grau HPLC e solução aquosa de ácido acético grau HPLC a 2% (70:30 v/v), preparada com água ultrapura Direct-Q® e bombeamento a um fluxo de vazão constante de 1mL/min. O volume de injeção foi de 20µL e o comprimento de onda foi ajustado para 254nm. **Conclusão:** A So foi capaz de expressar seus constituintes químicos mesmo sob condições de estresse térmico **Apoio financeiro:** CNPq: 140019/2015-4. **Palavras-chave:** Estresse térmico. *Senna occidentalis*. Plantas tóxicas.

XXIV SEMANA CIENTÍFICA PROF. DR. BENJAMIN EURICO MALUCELLI

14 a 16 de outubro de 2015

Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP)

São Paulo (SP) – Brasil

APRESENTAÇÃO ORAL - CATEGORIA INICIAÇÃO CIENTÍFICA

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DO CAMUNDONGO MUTANTE EQUILÍBRIO QUE APRESENTA ALTERAÇÕES MOTORAS E DO SISTEMA VESTIBULAR

BRITO, MAÍRA MORALES¹; ALMEIDA, LETICIA LIMA¹; NICHÍ, MARCÍLIO¹; VANNUCCHI, CAMILA INFANTOSI¹

¹ Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo

ARANHA¹; BERNARDI, MARIA MARTHA²; MASSIRONI, SILVIA MARIA GOMES³; MORI, CLAUDIA MADALENA CABRERA¹

¹ Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo

² Universidade Paulista -UNIP

³ Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo

Introdução e Objetivos: O camundongo mutante recessivo denominado equilíbrio (eqlb), que apresenta deficiência de equilíbrio e incoordenação motora, foi originado em um projeto de mutagenese que utilizou o agente químico N-Ethyl-N-Nitrosourea (ENU) [1]. O exame histopatológico de tais animais evidenciou a formação anormal das camadas celulares do cerebelo, com desorganização da camada de células de Purkinje e espessamento da camada granular externa. O seu mapeamento genético identificou a mutação no gene NADPH oxidase 3 (Nox3), cromossomo 17, que pode causar alterações na formação das otocônias e no sistema vestibular, responsável pela manutenção do equilíbrio e postura corporal [2,3]. Inicialmente, caracterização fenotípica dos mutantes *equilibrio* abrangeu a avaliação geral do fenótipo, utilizando uma bateria de testes comportamentais que objetivaram a observação do estado geral de saúde, dos reflexos neurológicos, das habilidades sensoriais e da função motora. Esses testes comportamentais, realizados no campo aberto, confirmaram essas alterações pela observação de maior queda do trem posterior e redução no reflexo de endireitamento que apontam para prejuízo do sistema psicomotor, enquanto que a redução na resposta ao toque e da irritabilidade mostraram que os mutantes também apresentam prejuízo no sistema sensorial. [4]. Com base nesses dados, o presente trabalho foi delineado para caracterizar o fenótipo do camundongo mutante *equilibrio* por meio de testes comportamentais e de compara-lo ao dos camundongos BALB/c para propiciar a validação do modelo animal.

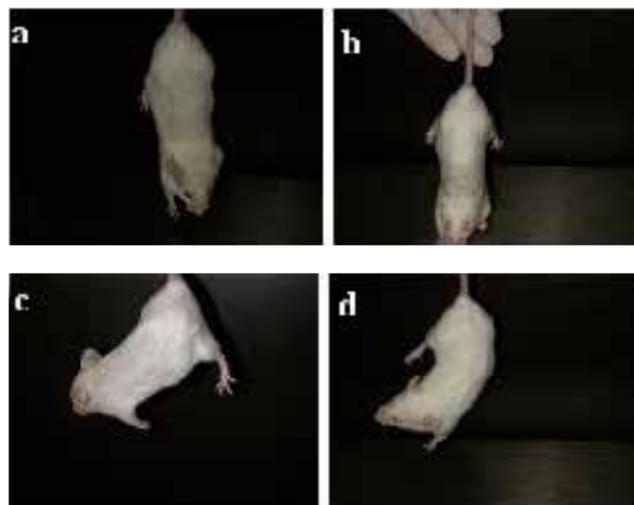


Figura 1 - Seleção dos mutantes pela observação da postura adotada quando segurados pela cauda. a e b – camundongos selvagens usados como controle; c e d – camundongos mutantes *eqlb*

Material e Métodos: Foram utilizados camundongos machos com oito semanas de idade, dos quais 12 mutantes *equilíbrio* e 12 camundongos BALB/c do grupo controle. Nessa etapa da caracterização fenotípica foram realizados os testes comportamentais de labirinto em cruz elevada (LCE), com o intuito de avaliar a ansiedade dos camundongos frente a um espaço aberto; coordenação motora na trave elevada, além dos testes de suspensão pela cauda e nado forçado para verificar a ocorrência de depressão. Os procedimentos experimentais foram aprovados pela CEUA FVMZ/USP e receberam número de protocolo 6463051114. **Resultados e Discussão:** Os resultados do teste da trave elevada indicaram que os mutantes *equilíbrio* apresentaram um prejuízo motor principalmente relacionado à coordenação motora (Figura 2). No teste de LCE foi constatado que os camundongos mutantes *equilíbrio* entraram muito mais vezes e permaneceram por mais tempo nos braços abertos, em relação ao grupo controle, o que seria um indicativo de um menor nível de ansiedade (Figura 3). Já no teste de suspensão pela cauda os mutantes ficaram mais tempo imóveis, sugerindo possíveis problemas de propriocepção (Figura 4). Notou-se também que os mutantes não conseguem nadar e afundam logo após serem colocados na água, possivelmente pela dificuldade de manterem a postura corporal.

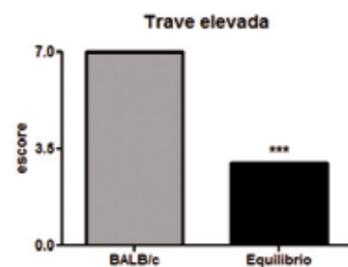


Figura 2 - Desempenho de camundongos *equilíbrio* e BALB/c na trave elevada

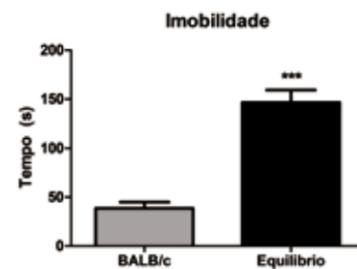


Figura 3 - Resultado obtido para a atividade de camundongos *equilíbrio* e BALB/c observados no teste de suspensão pela cauda

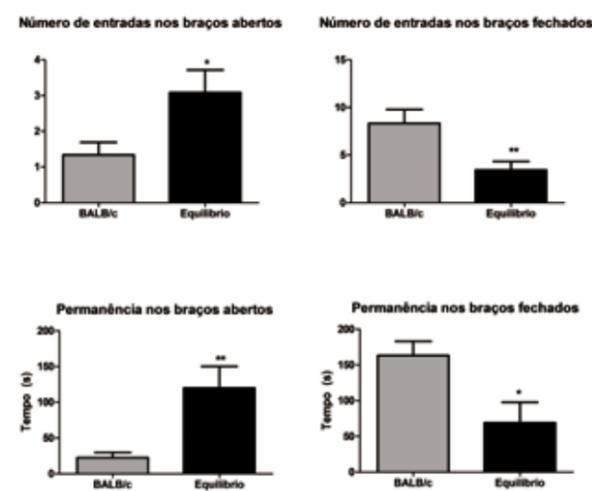


Figura 4 - Resultado obtido para a atividade geral de camundongos *equilíbrio* e BALB/c observados no labirinto em cruz elevada

Conclusões: Baseando-se nos resultados do presente trabalho a conclusão obtida foi que os camundongos mutantes *equilíbrio* apresentaram prejuízos motores e sensoriais, que muito provavelmente estão relacionados ao sistema vestibular, identificados pela dificuldade em reconhecer a posição espacial do corpo e, conseqüentemente, em manter a postura correta.

Apoio financeiro: O presente estudo teve auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Referências

- MASSIRONI S. M.; REIS, B. L.; CARNEIRO, J. G.; BARBOSA, L. B.; ARIZA, C. B.; SANTOS, G. C.; GUÉNET, J. L.; GODARD, A. L. Inducing mutations in the mouse genome with the chemical mutagen ethylnitrosourea. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 39, n. 9, p. 1217-1226, 2006.
- ARIZA, C. B. *Mutação eqlb causa alteração na expressão de genes do controle do ciclo celular de precursores de neurônios cerebelares*. 202 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 2011.
- ARIZA, C. B. *Mutação eqlb localizada no cromossomo 17 de camundongo causa desenvolvimento cerebelar anormal e ataxia*. 116 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 2007.
- MANES, M.; GARCIA GOMES, M. S. A.; BERNARDI, M. M.; MASSIRONI, S. M. G.; MORI, C. M. C. Fenotipagem comportamental do camundongo mutante *equilíbrio*. *Rev. Educ. Cont. Med. Vet. e Zootec. CRMV-SP*, v. 13, p. 69-69, 2015. Trabalho apresentado na XXIII Semana Científica Benjamin Eurico Malucelli, 2015, São Paulo.

AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA COMPARADA ENTRE ACARÁS (*GEOPHAGUS BRASILIENSIS*) E TILÁPIAS COMO BIOINDICADORES DE POLUIÇÃO AMBIENTAL DA REPRESA BILLINGS

GOMES, I.T.¹; LÓPEZ, A.C.C. 1; PAIVA, V.L.G.S.1; HELD, B.²; QUINAGLIA, G.A.²; SÁ, L.R.M.1

¹Laboratório de Gastroenterologia Experimental e Comparada e Patologia Ambiental, Departamento de Patologia, FMVZ-USP

²Setor de Análises Toxicológicas, Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

Introdução: A manutenção da saúde ambiental é fundamental para o abastecimento de água aos municípios e envolve a preservação dos ecossistemas aquáticos referente tanto a quantidade, como a qualidade, da água para os seus diferentes usos. Assim, a gestão ambiental dos recursos hídricos inclui também o monitoramento por meio da análise periódica dos fatores abióticos e bióticos dos efeitos da poluição. Entre os recursos hídricos do Estado de São Paulo, a represa Billings se destaca como a maior da região metropolitana de São Paulo que abastece aproximadamente 1,2 milhões de pessoas. A água da Billings é monitorada periodicamente pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) quanto às suas características físicas e químicas e do sedimento. Diferentemente do observado em outros países americanos e também nos europeus, no nosso meio, a avaliação dos fatores bióticos utilizando peixes não tem sido realizada de forma sistemática. Os peixes, como bioindicadores da saúde de ecossistemas aquáticos, são comumente usados para avaliações de toxicidade do ambiente aquático, pois estão presentes em vários níveis da coluna de água e participam de diferentes níveis tróficos da cadeia alimentar [1]. A análise anatomopatológica dos órgãos dos peixes, neste sentido, é um importante biomarcador dos efeitos agudos e crônicos da poluição das águas sobre a biota. Na represa Billings, entre as possíveis espécies de peixes que a habitam e que poderiam ser bioindicadores, destacam-se o acará (*Geophagus brasiliensis*) e a tilápia, peixes muito pescados e consumidos no local.

O acará, espécie nativa de peixe da família Cichlidae, tem como habitat natural os reservatórios, as lagoas e também os riachos e rios nacionais. Ocupa as regiões mais tranquilas e fundas desses ambientes, e trata-se de um animal diurno com tolerância a variações de temperatura e pH, podendo alcançar de 15 a 30 cm de comprimento total. A espécie é omnívora, consumindo vegetais, larvas, microcrustáceos, escamas e sedimentos em geral [2].

O nome “tilápia” deriva de uma palavra africana que significa “peixe”. As tilápias são originárias exclusivamente da África e Palestina e também pertencem à família Cichlidae. Foram descritas mais de 70 espécies de tilápias, porém a sua classificação taxonômica ainda é confusa e tem passado por contínuas mudanças. Isto se deve principalmente a similaridade e sobreposição de características fenotípicas e também ao fato de muitas espécies de tilápia terem se hibridizado livremente na natureza [3]. Naturalmente é fitoplancófaga, porém pode se comportar como omnívora na presença de excesso de alimento [4,5]. Atualmente, na represa Billings, são encontradas três espécies de tilápias: *Sarotherodon* sp., *Oreochromis niloticus* e *Tilapia rendalli* que ali foram introduzidas tanto para piscicultura quanto para a finalidade ornamental [6]. O presente trabalho efetuou a análise macroscópica comparativa de peixes acarás (*Geophagus brasiliensis*) e tilápias visando a sua possível utilização como bioindicadores dos níveis de poluição ambiental. **Materiais e Métodos:** Foram avaliados 87 acarás (50 machos e 37 fêmeas) e 46 tilápias (20 machos e 26 fêmeas) provenientes de cinco pontos de coleta do reservatório Billings, selecionados aleatoriamente e coletados no período das chuvas do ano de 2014. A área de estudo compreendeu os pontos de coleta da Unidade Hidrográfica de Gerenciamento de Recursos Hídricos-6 (UGRH-6

(Alto Tietê) que fazem parte da rede de monitoramento de águas superficiais e sedimentos da CETESB como reservatório do Rio Grande; RGDE 02200 (Lat: 23 44 23; Long: 46 26 44), RGDE 02900 (Lat: 23 46 16; Long: 46 32 03); reservatório Billings: BILL 02100 (Lat: 23 45 16; Long: 46 38 40), BILL 02500 (Lat: 23 47 27; Long: 46 35 54), BILL 02900 (Lat: 23 49 16; Long: 46 31 30); Braço do Taquacetuba: BITQ 00100 (Lat: 23 50 41; Long: 46 39 20). Os pontos de coleta são ilustrados na figura 1.

A captura dos peixes foi realizada em rede de espera por técnicos especializados da Divisão de Amostragem da CETESB. Os peixes foram avaliados quanto à condição física geral (peso, comprimento padrão e depósitos de gordura intracelomáticos) e quanto às alterações macroscópicas do hepatopâncreas, baço, rins e das brânquias. Foi realizado o exame macroscópico completo. Os resultados foram apresentados na forma de frequência e a análise estatística foi efetuada com o teste de Qui Quadrado empregando o programa estatístico Minitab. O nível de significância adotado foi 0,05.

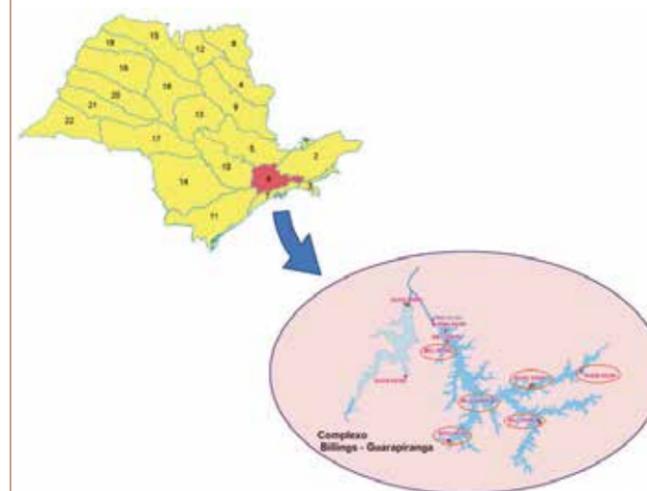


Figura 1 - Mapa do estado de São Paulo mostrando em vermelho a localização da grande São Paulo e em destaque o complexo Billings-Guarapiranga apresentando em vermelho os pontos de coleta

Fonte: Adaptado por Ivy Tasso Gomes de CETESB[7], 2013.

Resultados: O peso médio e desvio padrão dos acarás foi de $135,77 \pm 42,666$ g e das tilápias, $262,587 \pm 112,272$ g. O comprimento padrão médio dos acarás de $14,58 \pm 2,028$ cm e das tilápias de $17,408 \pm 2,601$ cm. Quanto à condição corpórea, 55/87 (63,22%) dos acarás e 12/46 (26,09%) das tilápias apresentaram condição corpórea adequada com depósitos de gordura intracelomática; 29/87 (33,33%) dos acarás e 2/46 (4,35%) das tilápias apresentaram condição de sobrepeso com grandes depósitos de gordura, enquanto 3/87 (3,45%) dos acarás e 32/46 (69,56%) das tilápias foram considerados magros.

Quanto ao hepatopâncreas, 34/87 (39%) dos acarás e 9/46 (19,56%) das tilápias apresentaram aumento do volume, 0/87 dos acarás e 2/46 das tilápias (4,35%) exibiram redução do tamanho do hepatopâncreas, 51/87 (59%) dos acarás e 30/46 (65,22%) das tilápias apresentaram hepatopâncreas friável e 49/87 (56%) dos acarás e 14/46 (30,43%) das tilápias apresentaram coloração amarela no parênquima do hepatopâncreas. Quanto ao baço, 7/87 (8%) dos acarás e 10/46 (21,74%) das tilápias apresentaram esplenomegalia, 2/87 (2,3%) dos acarás e 10/46 (21,74%) das tilápias apresentaram coloração vermelha enegrecida e 0/87 dos acarás e 4/46 (8,7%) das tilápias apresentaram pontos brancos multifocais. Quanto ao rim cefálico, nenhum acará apresentou alterações e 1/46 (2,17%) das tilápias apresentou granulomas esbranquiçados.

Quando às brânquias, 5/87 (5,75%) dos acarás e 3/46 (6,54%) das tilápias apresentaram excesso de muco e 1/46 (2,17%) das tilápias apresentaram presença de coágulos. A análise estatística revelou a existência de diferença entre acarás e tilápias quanto à ocorrência de hepatomegalia coloração amarela do hepatopâncreas onde os acarás foram os mais acometidos em ambos os parâmetros. Já as tilápias tiveram mais alterações no baço, apresentando mais esplenomegalia, coloração vermelha enegrecida do baço e pontos brancos no baço. Não houve diferença quanto aos demais parâmetros analisados. **Conclusão:** Os resultados obtidos revelaram que apesar dos acarás e tilápias examinados ocuparem o mesmo ambiente aquático foram constatadas diferenças entre os seus respectivos estados gerais de saúde e entre as lesões encontradas em seus órgãos. **Apoio financeiro:** FEHIDRO – AT 603; PIBIC - CNPq e FAPESP.

Referências

[1] JESUS,T. B. de; CARVALHO, C. E. V. de. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio(Hg). **Oecol. Bras.**, v. 12, n. 4, p. 680-693, 2008.

[2] STEDANI, P. M.; REIS, S. A.; ROCHA, O. Caracterização alimentar do acará (Geophagus brasiliensis) na lagoa dos tropeiros, Minas Gerais. In: SIMPÓSIO DE ECOLOGIA, 2., 2008, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2008..

[3] EL-SAYED, Abdel-Fattah M. **Tilapia Culture**. CABI Publishing, 2006.

[4] REZENDE,K. F. O. **Alterações morfológicas de Tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) (Linnaeus, 1758) expostas às águas da Represa Billings**. 60 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento do, São Paulo, 2011. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42134/tde-26012012-105551/pt-br.php>.

[5] OLIVEIRA, M. da S. **Curvas de crescimento de tilápias do nilo (Oreochromis niloticus) linhagem gift**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2013.

[6] AVARI, R. **Represa Billings: aspectos de poluição em locais de pesca considerando seus múltiplos usos**. Dissertação (mestrado) - Instituto de Pesca – APTA – SAA, São Paulo, 2013. Disponível em: <http://ftp.sp.gov.br/ftpesca/DissertaRicardoAvari.pdf> Acesso em: 23 set. 2015.

[7] CETESB. .2013.

COLETA SELETIVA: IMPACTOS DE UMA CAMPANHA REALIZADA NA FMVZ/USP

LABES, WELLYNGTON TADEU RIBEIRO¹; RIBEIRO, HENDRIK DILLAN FERREIRA²; LÓPEZ, ANA CAROLINA CAMACHOS³; CARAVIERI, RENATO³; COSTA, JANILDA SUDÁRIA³; FRANCIOLLI, ANDRÉ LUIS REZENDE³; GARCIA, MARISTELA LOPES³; ROCHA, CASSANDRA DE PAULLIE TORRENTES DE MAGALHÃES GALLIZA³; GONÇALVES, VAGNER JÚNIOR³; MARGARIDO, ADRIANA SILVEIRA³; MORI, CLARA SATSUKI³; ZANATTO, DENNIS ALBERT³; SÁ, LILIAN ROSE MARQUES DE³.

1. Escola de Artes, Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

2. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

3. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. **Introdução e Objetivos:** Na atualidade a destinação final ambientalmente adequada dos resíduos sólidos (RS) é uma das maiores preocupações da sociedade. Quando os RS são descartados de maneira inadequada eles podem contribuir para a poluição do solo, do ar e das águas, além de ocasionar redução dos recursos naturais e, desta forma, comprometer a qualidade de vida das futuras gerações. No contexto de sustentabilidade e gestão ambiental, é importante que o resíduo não seja mais visto como “lixo” e que passe a ser considerado como potencial matéria prima para novos produtos [1]. A reciclagem propicia a redução do consumo de energia, de recursos naturais e a minimização dos impactos ambientais e sociais relativos ao manejo inadequado dos RS [2]. Para garantir que os resíduos sigam para a reciclagem, no entanto, é essencial o incentivo, a participação e o empenho

coletivo e permanente da população nas campanhas de coleta seletiva [3,4].

O presente trabalho foi delineado para analisar e descrever os impactos de uma campanha de coleta seletiva pontual de curta duração implementada pela Comissão de Gestão de Resíduos na FMVZ/USP de forma a exemplificar para a comunidade envolvida o alcance dos resultados na segregação dos RS.

Materiais e Métodos: O trabalho foi realizado na lanchonete e saguão da FMVZ/USP, espaços que apresentam grande circulação de pessoas durante todo o dia e que, antes da campanha, apresentavam problemas relativos à segregação de resíduos. Na lanchonete havia apenas a segregação das latas e os demais resíduos eram descartados como lixo comum, enquanto que no saguão havia apenas um coletor para recicláveis de 100 litros, incompatível com a movimentação do local.

A análise foi dividida em duas etapas: 1 - pesagem e análise qualitativa dos resíduos gerados antes da campanha; 2 - pesagem e análise qualitativa dos resíduos gerados após campanha. O intervalo entre as duas etapas foi de dez dias. Em ambas as etapas a pesagem compreendeu o total de resíduos coletados num período de 24 horas em dois dias distintos.

Após a primeira etapa foi implementada a campanha de conscientização, com a distribuição de cartazes informativos e a instalação de um coletor para coleta de plásticos na lanchonete e de três coletores para resíduos recicláveis no saguão da unidade. Também foram distribuídos panfletos para a comunidade e instalada uma urna para recebimento de sugestões e opiniões relativas à campanha.

A avaliação qualitativa foi realizada com a abertura dos sacos e análise de seu conteúdo quanto à segregação. A análise quantitativa comparou as médias das pesagens nos dois momentos, empregando os testes de Qui-Quadrado ou o Exato de Fisher, software GraphPad Prism. **Resultados e Discussão:** A tabela 1 apresenta as médias dos resultados das pesagens, comparando os momentos pré e pós campanha. As análises mostraram que a coleta de recicláveis em relação ao total de resíduos aumentou de 9% para 36% na lanchonete e de 13% para 49% no saguão, enquanto que o total de resíduos comuns diminuiu de 91% para 64% e de 87% para 51% respectivamente (Gráficos 1 e 2). As diferenças observadas foram significativas (p<0,0001).

A análise qualitativa revelou a existência de melhora considerável na qualidade da segregação dos resíduos, com menor concentração de recicláveis no lixo comum e vice-versa, sendo notável também que, após a campanha, os resíduos estavam mais limpos e secos, e, portanto, menos propensos a perdas no processo de reciclagem. A análise das sugestões dadas pela comunidade mostrou que a campanha não só foi bem-vinda como também que deveria ser ampliada para outros ambientes da FMVZ, com a distribuição de coletores adequados e o fornecimento de esclarecimentos quanto à importância da reciclagem e destinação dos resíduos, mostrando que a demanda pela coleta seletiva já existia, tendo sido necessária a sua adoção, acompanhada do estímulo à prática motivada pela campanha educativa, resultados semelhantes foram obtidos em outras experiências de mesma natureza [4]. Cumpre ser destacado que o tipo de público envolvido na campanha, isto é, com educação de nível superior, pode ter sido um fator relevante para a expressividade dos resultados obtidos[5].

RESULTADOS DAS PESAGENS (KG)				
LANCHONETE			SAGUÃO	
Tipo de resíduo	Pré-campanha	Pós-campanha	Pré-campanha	Pós-campanha
Latas	2,25	3,1	0,75	5,65
Plástico	0	3,1		
Comum	25,2	12,7	5,1	5,95
Total	27,45	18,9	3,1	11,6

Tabela 1 – Distribuição das médias do peso dos resíduos nos momentos pré e pós-campanha na lanchonete e saguão

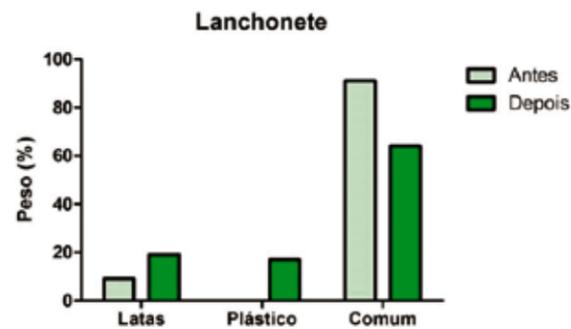


Gráfico 1 – Distribuição da variação no percentual médio de resíduos coletados nos momentos pré e pós-campanha na lanchonete da FMVZ-USP

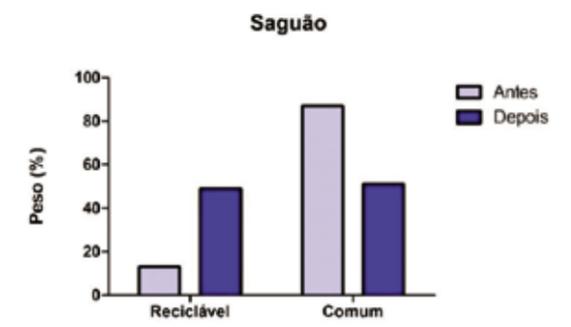


Gráfico 2 – Distribuição da variação no percentual médio de resíduos coletados nos momentos pré e pós-campanha no saguão da FMVZ USP

Conclusões: A adoção da campanha de coleta seletiva na FMVZ USP contribuiu de maneira positiva para a segregação dos resíduos do ponto de vista qualitativo e quantitativo. A aceitação e participação da comunidade mostraram que, quando as condições são favoráveis, as pessoas têm maior tendência para adotarem atitudes ambientalmente corretas e mais do que tudo, os resultados obtidos servem de estímulo à adoção permanente de programas de coleta seletiva na FMVZ/USP. **Apoio financeiro:** O presente estudo teve apoio financeiro da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP) e da Pró-Reitoria de Cultura e Extensão Universitária (PRCEU) através do programa Aprender com Cultura e Extensão e fomento.

Referências

[1] SUDAN, D. C. et. al. **Da pá virada:** revirando o tema lixo – vivências com educação ambiental e resíduos sólidos. São Paulo: Agência USP de Inovação, 2007.

[2] BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Coleta seletiva**. Brasília, [2015]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/cidades-sustentaveis/residuos-solidos/catadores-de-materiais-reciclavéis/reciclagem-e-reaproveitamento>. Acesso em: 25 set. 2015.

[3] CETESB. **Inventário estadual de resíduos sólidos urbanos:** 2014. São Paulo: CETESB, 2015. Disponível em: <http://solo.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/34/2013/12/residuosSolidos2014.pdf>. Acesso em: 25 set. 2015.

[4] BRINGHENTI, J.R.; GÜNTHER, W.M.R. Participação social em programas de coleta seletiva de resíduos sólidos urbanos. **Rev. Eng. Sanit. Ambient.**, São Paulo, v.16, n.4, p. 421-430, 2011.

[5] BRINGHENTI, J.R. **Coleta seletiva e resíduos sólidos urbanos:** aspectos operacionais e de participação da população. 2004. 234 p. Tese (Doutorado em Saúde Ambiental) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

MENINGOENCEFALOCELE POR CRANIABIFIDA EM PINTO DA RAÇA SEDOSA

KANADANI, MARINA YUMI ¹; RODRIGUES, DANILO MARIN ²; KOKUBUN, HANNA SIBUYA ³; GOMES, RODE PAMELA ³; MARQUES, GUSTAVO DE CALASANS ⁴; MAIORKA, PAULO CÉSAR ²

¹ Aluna de graduação – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP)

² Serviço de Patologia Animal – Hospital Veterinário (HOVET) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP)

³ Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros (PZMQB) – Sorocaba/SP

⁴ Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens (CEMPAS) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (FMVZ-Botucatu)

Introdução: As encefaloceles são herniações (ou protrusões) do sistema nervoso central que ocorrem devido a falha congênita no fechamento da ossificação cranial (crania bifida). Subdividem-se em cefalocele e meningoencefalocele, de acordo com as estruturas envolvidas na herniação. São originárias de um defeito primário no fechamento do tubo neural (disrafia), devido à interação defeituosa do neuroepitélio e da notocorda adjacente, no qual estão incluídas também a anencefalia, a hipoplasia prosencefálica, a espinha bifida e a hidromielia. [1][2] **Relato de Caso:** Um pinto de três semanas foi encaminhado ao Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens (CEMPAS-FMVZ-Botucatu) apresentando tremores, torcicolo, aumento de volume em região dorsal de cabeça, anorexia e perda de peso há uma semana, sendo medicado com diazepam no primeiro dia de tratamento e sulfa, fluidoterapia de suporte e alimentação forçada nos demais dias. Embora tenha apresentado melhora dos sintomas, morreu subitamente após uma semana de tratamento.

Na necrópsia, foi constatado o fechamento incompleto dos ossos frontais, com protrusão de 2,0 x 1,6 x 1,0 cm, formada pela meninge e ambos hemisférios do encéfalo (Figuras 1, 2 e 3).

Na análise microscópica da área de protrusão encefálica, foi observada marcante malácia, associada a hemorragia (Figura 4), vacuolização neuronal (Figura 5), neuroniofagia e congestão (Figura 6); no restante do tecido cerebral foram verificadas áreas multifocais de malácia moderada a marcante, gliose difusa moderada e também áreas multifocais de discreta gliose nodular; no cerebelo havia intensa vacuolização de substância branca; ademais, em região da protrusão foi encontrada uma área focal de fissura de superfície, associada a hemorragia. O pulmão apresentava congestão e hemorragia multifocais marcantes.

Os demais órgãos não apresentaram alterações macroscópicas ou microscópicas relevantes. **Discussão:** Os achados anatomopatológicos macroscópicos e microscópicos são consistentes com meningoencefalocele devido à crania bifida. A lesão encefálica é causada pela compressão da protrusão, gerando as alterações neuronais que culminam na sintomatologia observada.

Há relatos da indução desta anomalia com o uso de griseofulvina em gatas durante a primeira semana de prenhez, e de caráter hereditário em suínos e gatos da raça birmanês [1][2]. Embora os autores desconheçam descrições de envolvimento hereditário desta anomalia nesta raça, há relatos correlacionando a frequência de exencefalia em galináceos híbridos.[3]

É importante salientar que um irmão deste animal, mas de outra ninhada, apresenta episódios esporádicos de convulsões focais, torcicolo e tremores após situações de estresse, tais como a contenção, sendo os dois únicos animais que apresentavam tais sintomatologias na criação.



Figura 1 - Cabeça de pintainho com três semanas de idade após fixação, visão lateral esquerda. Observar a protrusão de meninge e encéfalo de 2,0 x 1,6 x 1,0 cm.



Figura 2 - Cabeça de pintainho com três semanas de idade após fixação, visão dorsal. Observar que a protrusão envolve ambos hemisférios.



Figura 3 - Cabeça de pintainho de três semanas de idade após fixação, visão lateral esquerda após corte longitudinal medial. Observar maior detalhamento da região herniada.

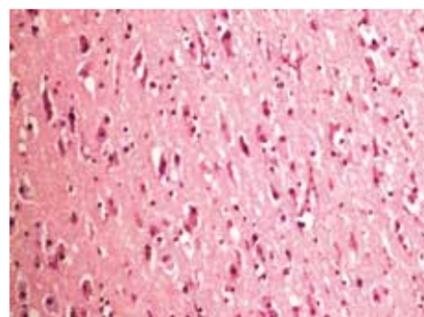


Figura 4 - Cérebro de pintainho de três semanas de idade, corte histológico da região herniada. Observar múltiplas áreas de necrose neuronal e gliose. Coloração HE, 20X.

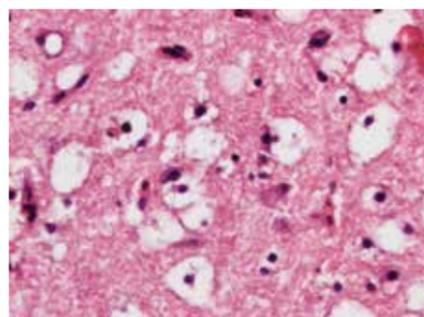


Figura 5 - Cérebro de pintainho de três semanas de idade. Corte histológico da região herniada. Observar múltiplas áreas de vacuolização. Coloração HE, 40X.

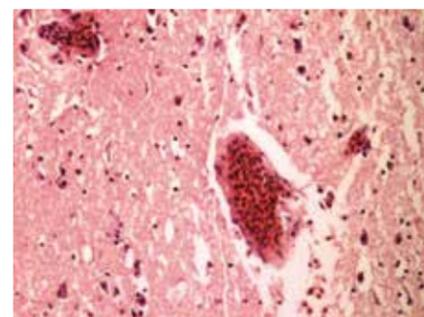


Figura 6 - Cérebro de pintainho de três semanas de idade. Corte histológico da região herniada. Observar áreas de congestão, além de hemorragia e gliose. Coloração HE, 20X.

Conclusão: Acredita-se que neste caso a morte tenha ocorrido pela sequência de alterações neurológicas, culminando em um choque cardiorrespiratório. Este relato é importante para futuros estudos genéticos desta raça e também de outras, visto que, à exceção dos casos envolvendo a correlação do antifúngico griseofulvina como agente teratogênico em felinos, os demais relatos em medicina veterinária correlacionam esta doença à hereditariedade.

Apoio financeiro: Este relato não contou com auxílio financeiro.

Referências

[1] MAXIE, M. G.; YOUSSEF, S. Nervous System. In: MAXIE, M. G. (Ed.). *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. 5. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. p. 301-302.

[2] ZACHARY, J. F. Sistema Nervoso. In: ZACHARY, J. F.; MCGAVIN, M. D. (Ed.). *Bases da Patologia em Veterinária*. 5. ed. Rio de Janeiro: Mosby Elsevier, 2013. p. 798.

[3] PUROHIT, V. D.; BASRUR, P. K.; REINHART, B. S. Exencephaly in chicken-pheasant hybrids. *Br. Poult. Sci.*, v. 18, n. 2, p. 143-146, 1977.

AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE ACARÁS (*GEOPHAGUS BRASILIENSIS*) COMO BIOMARCADOR DE POLUIÇÃO AMBIENTAL DA REPRESA BILLINGS

LÓPEZ, ANA CAROLINA CAMACHOS¹; PAIVA, VERA LISA GENEROSA SILVA¹; HELD, BÁRBARA¹; QUINAGLIA, GILSON²; SÁ, LILIAN ROSE MARQUES¹

¹Laboratório de Gastroenterologia Experimental e Comparada e Patologia Ambiental, Departamento de Patologia, FMVZ-USP

²Laboratório de Análises Toxicológicas, Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

Introdução e Objetivos: A água é um recurso natural essencial para a vida na Terra. Além de ser fundamental ecologicamente, é utilizada com fins econômicos como para o abastecimento para a humanidade e produção industrial e agrícola, influenciando diretamente a tomada de decisões políticas, econômicas e sociais. Na atualidade, se faz fundamental a participação da sociedade com uso consciente e adequado da água, e das Universidades na pesquisa por maior eficiência dos métodos de preservação do meio ambiente bem como analisando e propondo formas de avaliação da qualidade da água disponível. Um dos recursos mais utilizados no mundo todo para monitorar e garantir a qualidade de águas é a biomonitorização, pois reflete a condição dessas águas nos organismos residentes. O objetivo do projeto é emprego da análise anatomopatológica de peixes acarás (*Geophagus brasiliensis*) provenientes de diferentes pontos de coleta do reservatório Billings como

biomarcador e desta forma verificar a possibilidade de utilizar essa espécie como bioindicador dos níveis de poluição do ambiente, e assim subsidiar políticas públicas de monitoramento ambiental. Os objetivos específicos são a análise do estado de saúde dos peixes em cada ponto, a determinação do órgão com maior frequência e grau de lesão para correlação com comprometimento do estado de saúde e poluição, e a definição do padrão de reação com maior frequência de ocorrência. **Materiais e Métodos:** Foram avaliados 50 acarás machos e 37 fêmeas provenientes de cinco pontos do reservatório Billings, coletados no período de chuvas de 2014 pela CETESB. As carcaças foram identificadas, pesadas e mensuradas, e necropsiadas. Foram coletados e fixados em formol 10% fragmentos do fígado, rins, baço, brânquias e outros órgãos que apresentaram alteração, que foram processados com inclusão em parafina e coloração por hematoxilina e eosina. Quando pertinente foram realizadas colorações histoquímicas ácido periódico de Schiff (PAS), Ziehl-Neelsen, Perls e reticulina. As análises histopatológicas foram conduzidas nos aumentos de 40, 100, 200, 400 e 1000x.

A análise microscópica foi baseada e adaptada de [1] Bernet e colaboradores (1999). Cada alteração recebeu um fator de importância (w), que varia de 1 a 3 e um valor de escore (a), que varia de 0 a 3, dependendo de seu grau e da sua extensão, com que foram calculados os Índices de lesão por órgão e Índice total. Com os dados de análise da água foi calculado o Índice de Qualidade da Água (IQA) de cada ponto de coleta.

O teste não paramétrico Kruskal-Wallis em seguida o post teste de Dunnett foram usados para comparar os pesos e biometria e os índices totais entre os cinco pontos e o teste de Spearman foi usado para verificar correlação entre os IQA dos pontos de coleta e a média do Tot-I dos peixes coletados nesses pontos utilizando o programa estatístico Minitab e diferença estatística significativa foi considerada quando $p < 0,05$. **Resultados e Discussão:** A diferença entre os gêneros não foi considerada na análise. A média e desvio padrão do peso dos peixes foi de $135,77 \pm 42,666$ g, e os dados biométricos para comprimento total médio $18,32 \pm 1,983$ cm, e para comprimento padrão médio $14,58 \pm 2,028$ cm. Quanto à condição corpórea, 55/87 (63,22%) dos animais apresentaram condição corpórea adequada com depósitos de gordura intracelomática e 29/87 (33,33%) condição de sobrepeso com grandes depósitos de gordura, enquanto 3/87 (3,45%) foram considerados magros.

Fazendo uma análise por ponto de coleta a média e desvio padrão do peso em gramas dos peixes provenientes do ponto 1 (Lat 23 49 16 e Long 46 31 30) foi de $134,12 \pm 24,589$ g, e quanto aos dados biométricos, a média e desvio padrão, em centímetros, do comprimento padrão foi de $14,931 \pm 3,165$ cm, e do comprimento total $18,62 \pm 0,988$ cm. Peixes em condição corpórea adequada totalizaram 12/16 (75%), 1/16 (6,25%) grandes depósitos de gordura e 3/16 (18,75%) foram considerados magros neste ponto.

Os peixes provenientes do ponto 2 (Lat 23 44 23 Long 46 26 44) tiveram média e desvio padrão do peso em gramas de $139,3 \pm 27,344$, e dados biométricos em centímetros do comprimento padrão de $15,04 \pm 1,791$ e do comprimento total de $18,07 \pm 1,975$. 75% dos peixes tiveram condição corpórea adequada e 25% grandes depósitos de gordura.

Os peixes provenientes do ponto 3 (Lat 23 46 16 Long 46 32 03) tiveram média e desvio padrão do peso em gramas de $151,13 \pm 82,314$, e dados biométricos em centímetros do comprimento padrão de $15,18 \pm 2,170$ e do comprimento total de $19,53 \pm 2,807$. 15/20 (aproximadamente 85%) dos peixes tiveram condição corpórea adequada e 5/20 (13%) dos animais grandes depósitos de gordura.

Os peixes provenientes do ponto 4 (Lat 23 45 16 Long 46 38 40) tiveram média e desvio padrão do peso em gramas de $109,53 \pm 22,686$, e dados biométricos em centímetros do comprimento padrão de $13,24 \pm 0,947$ e do comprimento total de $17,18 \pm 1,150$. 12/15 (80%) dos peixes tiveram condição corpórea adequada e 3/15 (20%) grandes depósitos de gordura.

Os peixes provenientes do ponto 5 (Lat 23 47 27 Long 46 35 54) tiveram média e desvio

padrão do peso em gramas de $141,45 \pm 28,619$, e dados biométricos em centímetros do comprimento padrão de $14,40 \pm 1,119$ e do comprimento total de $18,29 \pm 1,948$. 3/21 (aproximadamente 15%) dos peixes apresentaram condição corpórea adequada e 18/21 (cerca de 85%), grandes depósitos de gordura. A análise estatística revelou que existe diferença significativa de peso entre os pontos ($p = 0,010$), de comprimento padrão ($p = 0,001$) e de comprimento total ($p = 0,011$). Quanto ao peso, a análise estatística revelou que os pontos 3 e 4 têm diferença significativa entre si ($p = 0,082$); quanto ao comprimento padrão, que o ponto 4 tem diferença significativa com os pontos 2 e 3 ($p = 0,46$); e quanto ao comprimento total, que os pontos 3 e 4 têm diferença significativa entre si ($p = 0,019$).

Quanto à condição corpórea, a análise estatística revelou que existe diferença significativa entre os pontos ($p = 0,001$). A análise também mostrou que o Ponto 5 teve diferença significante entre todos os outros pontos ($p = 0,001$) e os Pontos 1 e 2 apresentaram diferença significante entre si ($p = 0,001$).

Considerando a totalidade de acarás, quanto aos órgãos analisados, 34/87 (39,08%) dos peixes apresentaram hepatomegalia e 49/87 (56,32%) coloração amarela e 51/87 (58,62%) consistência friável do fígado. Quanto ao baço, apenas 7/87 (8%) apresentaram esplenomegalia e 42/87 (48,28%) alteração de coloração do mesmo, com cor vermelho escuro a enegrecido. Em relação às brânquias, 5/87 (5,75%) dos animais apresentaram muco recobrindo os arcos. Os demais órgãos analisados – genitais; trato gastrointestinal, coração e rins – não apresentaram alterações macroscópicas.

Dentre os peixes coletados no ponto 1 ($n = 16$), 1/16 (6,25%) apresentou hepatomegalia, e 14/16 (87,5%) apresentaram coloração amarelada do fígado e 10/16 (62,5%) consistência friável do órgão. Houve alteração de tamanho do baço em 1/16 (6,25%) e 3/16 (18,75%) apresentou coloração vermelho escura e 10/16 (62,5%), vermelha. As brânquias não apresentaram alteração.

No ponto 2 ($n = 20$), 15/20 (75%) dos peixes coletados apresentaram hepatomegalia, 20/20 (100%) coloração amarela e 19/20 (95%) consistência friável do fígado, além de 2/20 (10%) com vasos evidentes, gordura entremeada e petéquias no parênquima. Não houve alteração de tamanho do baço, e 13/20 (65%) apresentaram coloração vermelho-escuro e 5/20 (25%), vermelha. Quanto às brânquias, 5/20 (25%) apresentaram coloração vermelho-escuro e 4/20 (20%) coloração rosa, e 2/20 (10%) exibiram material verde aderido e muco. 3/20 (15%) dos peixes apresentaram estômago vazio ou com pouco conteúdo.

No ponto 3 ($n = 15$), 1/15 (6,67%) dos peixes coletados apresentaram hepatomegalia, quanto à coloração do fígado, 9/15 (60%) vermelho escuro enegrecido e 5/15 (33,3%) vermelho acastanhado, com 2/15 (13,33%) de consistência friável, 2/15 (13,33%) apresentando bordos arredondados e 5/15 (33,33%) com gordura entremeada e os fragmentos flutuaram na solução fixadora. Em 2/15 (13,33%) dos peixes foi observado esplenomegalia e 9/15 (60%) coloração vermelho escura do baço. Em 1/15 (6,67%) dos peixes, as brânquias exibiu coloração vermelho escura, e em 9/15 (60%), vermelha. 4/15 (26,67%) dos animais apresentaram estômago com pouco ou nenhum conteúdo.

No ponto 4 ($n = 15$), 5/15 (33,33%) dos peixes coletados apresentaram hepatomegalia, 4/15 (26,67%) coloração amarelada e 5/15 (33,33%) consistência friável do fígado, 5/15 (33,33%) vasos evidentes e 3/15 (20%) com gordura entremeada e os fragmentos flutuaram na solução fixadora. Em 3/15 (20%) dos peixes foi diagnosticado esplenomegalia e 8/15 (53,33%) coloração vermelho escura do baço, assim como coloração vermelho escura das brânquias. 3/5 (20%) dos animais apresentaram pouco ou nenhum conteúdo gástrico.

No ponto 5 ($n = 21$), 12/21 (57,14%) dos peixes coletados apresentaram hepatomegalia, 11/21 (52,38%) coloração amarelada do fígado e 15/21 (71,43%) consistência friável do órgão. Em 1/21 (4,76%) dos acarás foi observado esplenomegalia e 2/21 (9,52%) coloração vermelho enegrecido do baço. Em 6/21 (28,57%) dos peixes a coloração vermelho escura foi observada nas brânquias e em 4/21 (19%) presença de muco nas mesmas. 7/21 (33,33%) dos animais apresentaram pouco ou nenhum conteúdo gástrico.

Os Índices seguiram as fórmulas descritas por [1] Bernet et al são:

$$I_{org.} = \sum_{rp} \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

$$I_{org\ rp} = \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

$$Tot - I = \sum_{org} \sum_{rp} \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

$$I_{rp} = \sum_{org} \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

Todos os Índices foram calculados usando os dados das brânquias e do fígado. O rim seria usado, porém, devido ao baixo número de fragmentos coletados, foi excluído do cálculo. Os valores máximo e mínimo de Tot-I foram, respectivamente, 16 e 1 no Ponto 1; 22 e 1 no Ponto 2; 9 e 1 no Ponto 3; 17 e 2 no Ponto 4 e 26 e 7 no Ponto 5. A média do Ponto 1 foi 5,75; do Ponto 2 foi 6,65; do Ponto 3 4,73; do Ponto 4 7,2 e do Ponto 5 14,14. A análise estatística revelou que há diferença entre os pontos quanto aos valores de Tot-I ($p=0,001$), e que o ponto com diferença significativa entre os outros é o Ponto 5.

Com os valores dos parâmetros pode ser calculado o Índice de Qualidade de Água (IQA) de cada um dos pontos, que foram apresentados na tabela 1.

A análise estatística indicou que existe correlação não significativa entre o IQA e o Tot-I dos acará. O coeficiente de correlação de Spearman foi $r = -0,700$ e o valor $p = 0,188$. O valor negativo do coeficiente de Spearman indica que a correlação é inversa, ou seja, quanto menor o valor de IQA, maior o Tot-I, em outras palavras quanto pior a qualidade da água (menor IQA) maior o índice geral Tot-I (maior o número de lesões).

No rim, foi observada maior frequência de ocorrência dos quadros de congestão, depósitos de pigmentos e degeneração tubular, glomerulonefrite e melanomacrófagos. A nefrite linfocítica intersticial foi baixa. Com a coloração específica de PAS e Perls, gotículas hialinas intracitoplasmáticas PAS positivas nas células tubulares ficaram evidentes.

No rim céfalico as lesões mais frequentes foram congestão e alteração no número de agregados de melanomacrófagos. A depleção da porção cortical tem uma ocorrência importante, embora também tenha sido observada uma inversão, com a hiperplasia da porção cortical.

No pâncreas a alteração histopatológica mais frequente foi infiltração adiposa, embora também tenha sido diagnosticada pancreatite linfocítica.

No baço foi diagnosticado em maior frequência congestão (85,19%) e depleção da polpa branca (65,43%), quase sempre, concomitantes. A frequência de ocorrência de depósitos de pigmentos (43,21%) foi essencialmente nas células reticulares dos elipsóides. Foram realizadas colorações específicas PAS e Perls para avaliação dos pigmentos, e se constatou Perls positivo nos agregados de melanomacrófagos e ausência de lipofuscina (PAS negativo).

Na vesícula natatória, foi observado em todos os fragmentos analisados presença de megalocitose, inclusões nucleares claras e vacuolização das células do epitélio produtor de surfactante. Foi realizada coloração específica com PAS e ficou evidenciado que poucos núcleos se mostraram positivos. A ocorrência de inflamação por infiltrado linfocítico e presença de mastócitos também ocorreu em frequência.

No intestino foi diagnosticado enterite, embora também alterações de congestão e presença de parasitas. No estômago o diagnóstico de gastrite foi o mais frequente. O coração apresentou alterações principalmente de espessamento do epicárdio e hemorragia. Quanto aos genitais, foi observado nos testículos túbulos revestidos por epitélio imaturo (12,86%), enquanto nos ovários foi diagnosticado inflamação granulomatosa associada a presença de parasitas em poucos casos. Com a coloração específica por PAS, ficou evidente ovos de parasita trematóide. O músculo esquelético teve frequência baixa de alterações, e dentre elas hemorragia, inflamação e larva de nematóide ascarídeo.

Os resultados biométricos apresentaram um valor máximo de 1,9 cm de diferença, e se manteve dentro do resultado esperado para a espécie, de 15 a 30 cm de comprimento padrão, como informado por Stefani, Reis e Rocha.² Na avaliação macroscópica dos peixes, o principal órgão com alterações macroscópicas em todos os pontos foi o fígado, frequentemente apresentando hepatomegalia, coloração amarela e consistência friável. De acordo com Roberts,³ é comum os hepatócitos de peixes ficarem repletos de glicogênio ou triglicerídeos quando sua alimentação diminui mesmo que discretamente.

Os índices calculados puderam ser utilizados com três finalidades: o Tot-I permite estimar o estado de saúde dos peixes; o I org é possível determinar qual órgão analisado é mais indicado para refletir o estado sistêmico do peixe e com o I rp, definir o padrão de reação mais abundante em um caso de contaminação ambiental. No quesito de estado de saúde, os peixes se encontram em bom estado de saúde, já que todos apresentaram valor de Tot-I menor que 65. Porém, existe diferença entre os pontos, e especialmente o ponto 5, cuja diferença é estatisticamente significativa pois apresenta valores muito acima dos demais pontos.

Embora o Tot-I indique estado de saúde bom dos acará analisados, a análise da correlação entre Tot-I e IQA possibilitou mostrar que os maiores valores de Tot-I (pontos) apresentam correlação forte inversa não estatisticamente significativa ($r = -0,7$) com IQA baixo (qualidade regular da água). Este resultado, mostra quanto maior a poluição, pior fica o estado de saúde dos peixes que habitam, mesmo que eles ainda sejam considerados saudáveis. Fortalecendo que os acará podem ser usados como bioindicadores do ambiente e que a análise histopatológica dos dois órgãos, brânquias e fígado, é biomarcador relevante para avaliação do ambiente.

Assim, esse resultado é interessante e importante para mostrar e reforçar que a poluição interfere na vida e na saúde dos animais aquáticos, como outros autores mostraram Camargo e Martinez e Santos.^{4,5} **Conclusões:** Os acará da represa Billings se encontram em bom estado de saúde, porém existe variação de acordo com a qualidade da água que habitam. O órgão que mais se aproxima de seu estado geral é o fígado, assim, ele é o mais adequado para ser analisado. O padrão de reação que mais se aproxima do Tot-I é o degenerativo, o que indica que pode haver reversão do processo. Assim, o acará pode ser considerado um bom bioindicador para poluição ambiental e a análise histopatológica dos órgãos, como fígado e brânquias, pode ser utilizada como biomarcador dos efeitos tóxicos ambientais.

Apoio financeiro: O presente estudo teve auxílio financeiro do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

[1] BERNET, D. et al. Histopathology in fish: a proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *J. Fish Dis.*, v. 22, n. 1, p. 25-34, Jan. 1999.

[2] STEDANI, P. M.; REIS, S. A.; ROCHA, O. Caracterização alimentar do acará (Geophagus brasiliensis) na lagoa dos tropeiros, Minas Gerais. In: SIMPÓSIO DE ECOLOGIA, 2., São Carlos, 2008. *Anais...* São Carlos: UFSCar, 2008.

[3] ROBERTS, R. J. *Fish Pathology*. 4. ed. Inglaterra: Wiley-Blackwell, 2012.

[4] CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotrop. Ichthyol.*, Porto Alegre, v. 5, n. 3, p. 327-336, July/Sept. 2007.

[5] SANTOS, D. M. S. **Qualidade da água e histopatologia de órgãos de peixes provenientes de criatórios do município de Itapecuru Mirim, Maranhão**. 2010. 83 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.

FENOTIPAGEM COMPORTAMENTAL DO CAMUNDONGO MUTANTE ESPONTÂNEO TREMOR

GARCIA GOMES, MARIANA DE SOUZA ARANHA¹; MANES, MARIANNA¹; BERNARDI, MARIA MARTHA²; MASSIRONI, SILVIA MARIA GOMES³; MORI, CLAUDIA MADALENA CABRERA¹

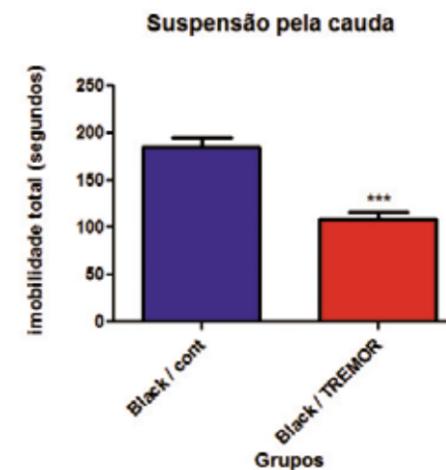
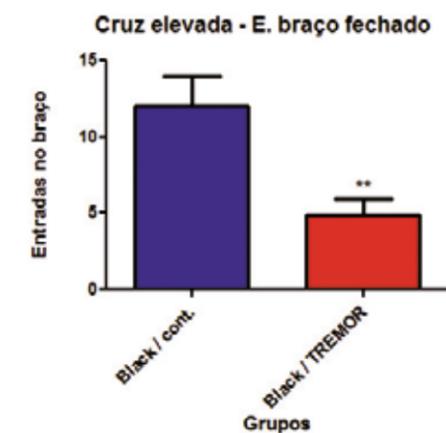
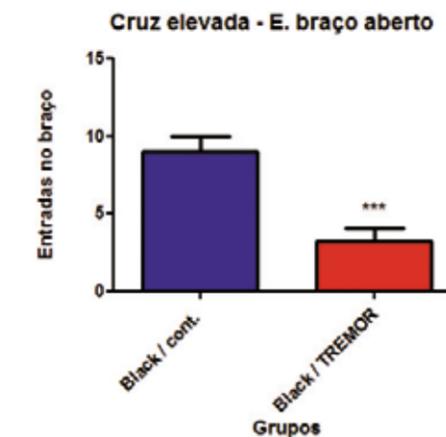
¹ Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

² Universidade Paulista - UNIP, São Paulo, SP, Brasil.

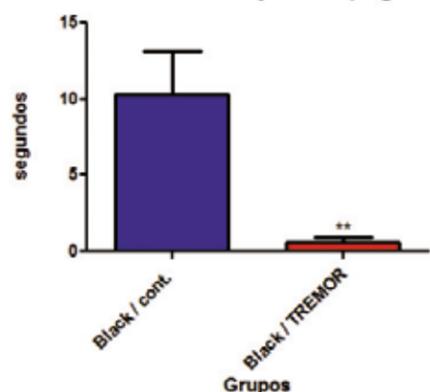
³ Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução e Objetivos: A mutação espontânea tremor (tr), autossômica recessiva, foi inicialmente observada e identificada em camundongos Swiss no Biotério do Departamento de Patologia da FMVZ da Universidade de São Paulo, e por meio de retrocruzamentos foi transferida para a linhagem congênica C57BL/6 (N10). Os camundongos mutantes apresentam como principais características fenotípicas tremores, ataxia e convulsões tônicas audiogênicas. Essas alterações foram observadas logo que os animais foram desmamados – três semanas de vida – mas não foi realizada uma análise detalhada dos filhotes para saber com precisão quando essas alterações surgem. Um estudo anterior fez a análise histopatológica com coloração de Luxol Fast Blue, e a partir dela foi evidenciada a deficiência de mielina principalmente nas meninges e na camada molecular do cerebelo dos animais com essa mutação [1] O mapeamento genético com marcadores microsatélites indicou que a mutação tremor encontra-se no cromossomo 14 na posição de 36,2 cM, provavelmente localizada no gene Egr3. Resultados dos testes realizados no campo aberto indicaram prejuízo de origem no sistema nervoso central, que mostravam déficit no desempenho motor dos mutantes. Nesses testes foram também detectadas alterações no seu sistema sensorial evidenciadas principalmente pela redução de respostas ao toque, reflexo corneal e aperto de cauda em relação às respostas do grupo controle [2, 3]. Visando à validação do modelo animal, a partir desses resultados iniciais, foram selecionados testes comportamentais mais específicos que auxiliaram na caracterização do fenótipo da mutação. **Material e Métodos:** Foram utilizados camundongos machos com oito semanas de idade, dos quais oito mutantes tremor e oito camundongos C57BL/6 para o grupo controle. A caracterização fenotípica dos camundongos mutantes abrangeu a avaliação geral do fenótipo baseando-se nos testes comportamentais: reconhecimento de objetos e labirinto em T, para verificar a memória e o aprendizado; labirinto em cruz elevada, para verificar a presença de ansiedade; trave elevada para avaliar a coordenação motora, e os testes de suspensão pela cauda e nado forçado para verificar a ocorrência de depressão. Todos os testes foram realizados no período da manhã, e em condições controladas para que não ocorressem alterações que pudessem gerar respostas falsas ou tendenciosas. A ordem de realização dos testes foi estabelecida a partir do grau de stress que o animal seria submetido, sendo que o primeiro foi o menos estressante, para que cada teste influenciasse o mínimo possível no resultado do subsequente. Foi respeitado o período de descanso de quatro dias entre o fim de um teste e o início do seguinte. Os procedimentos foram aprovados pela CEUA-FVMZ/ USP sob protocolo 6463051114. **Resultados e Discussão:** Em relação aos camundongos C57BL/6 do grupo controle, nos mutantes foi observado um incremento significativo nos tremores. Também foi constatada a redução da coordenação motora, observada pelo resultado do teste da trave elevada; respostas negativas a ansiedade, que foram caracterizadas pelos resultados do teste no labirinto em cruz elevada; redução da memória e menor intensidade dos sinais de depressão, observados no teste de labirinto em T, e suspensão pela cauda e natação forçada, respectivamente (Figura 1). Os resultados indicam que o mutante tremor apresenta prejuízos de origem no sistema nervoso central, gerados possivelmente pela falta de mielina, o que afeta o desempenho

motor dos animais e pode levar à ocorrência das convulsões. Observou-se também que os camundongos mutantes apresentam déficit de memória e/ou aprendizado.



Reconhecimento de objetos - 2 (segundos)



Trave elevada

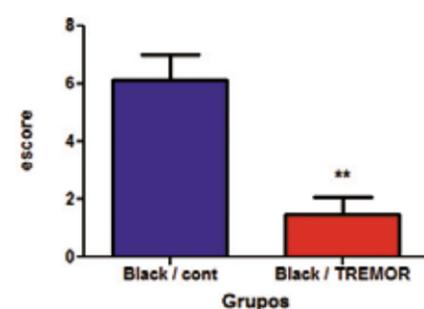


Figura 1 - Testes comportamentais utilizados para verificar a presença de ansiedade, coordenação motora a presença de sinais de depressão e a memória TREMOR em camundongos C57BL/6.

Conclusões: Concluiu-se que a caracterização das alterações comportamentais observadas foi importante para descrição do fenótipo do camundongo mutante fornecendo informações que auxiliaram no mapeamento genético. Além disso, essas informações são valiosas para o entendimento do que essa mutação pode vir a representar como modelo de estudo de doenças neurodegenerativas.

Referências

[1] OLIVATO, M. C. M. et al. Caracterização morfológica e genética da mutação espontânea tr em camundongos causando tremores, ataxia e convulsões. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO, 13., Porto Alegre, 2014. *Anais...* Porto Alegre: SBCAL, 2014.

[2] GARCIA GOMES, M. S. A. et al. Caracterização fenotípica do camundongo mutante espontâneo tremor utilizando uma bateria de testes comportamentais. *Rev. Educ. Contin. Med. Vet. Zootec. CRMV-SP*, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 69, 2015. Trabalho apresentado na XXIII Semana Científica Benjamin Eurico Malucelli, São Paulo, 2015.

[3] GARCIA GOMES, M. S. A. Caracterização fenotípica do camundongo mutante espontâneo tremor utilizando uma bateria de testes comportamentais, 2014. 41 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, 2014.

APRESENTAÇÃO ORAL - CATEGORIA MESTRADO

ESTRESSE DE CONVIVÊNCIA COM COMPANHEIROS DOENTES: DA ATIVAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO AO SISTEMA IMUNE

MARGATHO, R. O.1; CRUZ, D. G.1; SANDINI, T. M.1; CALEFI, A. S.1; BORSOI, A.1; ZAGER, A.1; MASSOCO, C.1; PALERMO-NETO, J.1

1Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução: O Sistema Nervoso Simpático (SNS) contribui para os efeitos relacionados ao estresse com a síntese de catecolaminas. Já foi demonstrado que a coabitação com parceiros da mesma espécie portadores da forma ascítica do tumor de Ehrlich (T.A.E), um estresse psicológico, provoca mudanças em parâmetros comportamentais e imunes nos animais companheiros: leucopenia, redução da atividade imune inata, aumento da atividade locomotora em campo aberto, diminuição nos níveis e aumento do turnover de noradrenalina no hipotálamo, diminuição do burst oxidativo e da atividade de neutrófilos colhidos no sangue periférico, aumento da resposta alérgica pulmonar e ausência de alterações nos níveis de corticosterona. É conhecido que os tumores produzem componentes orgânicos voláteis, que são liberados para a atmosfera pela urina, suor e respiração. Analisando-se esta vertente, foi sugerido que os odores liberados pelos camundongos injetados com o tumor seriam responsáveis pelas mudanças neuroimunes relatadas nos conespecíficos saudáveis e que os roedores teriam a sua fisiologia e homeostase modificadas por esta estimulação olfativa aversiva. Desta forma, dentro de uma perspectiva neuroimunológica, o presente trabalho avaliou o envolvimento do sistema nervoso autonômico simpático com os efeitos desencadeados pela convivência usando-se como instrumento farmacológico o propranolol. **Objetivos:** Estudar os efeitos do bloqueio de receptores beta-adrenérgicos sobre parâmetros da imunidade inata em um modelo de indução do estresse pela coabitação (11 dias) com parceiros inoculados com T.A.E.

Métodos: Código de aprovação no Comitê de ética da FMVZ-USP: 8317270114.

Animais: foram utilizados camundongos da linhagem Swiss fêmeas com oito semanas e pesando por volta de 35 gramas. Formação dos grupos: No grupo controle, um par de camundongos por trio foi tratado intraperitonealmente (i.p) com salina; o outro animal foi mantido sem manipulação e denominado **CHP companion of health partners**. No grupo experimental, um par de camundongos por trio foi inoculado com 5×10^6 células de tumor ascítico de Ehrlich (T.A.E) por via i.p.; o outro animal foi mantido sem manipulação e foi denominado de CSP companion of sick partners. O dia da injeção do tumor foi denominado ED0 (dia experimental 0) e a convivência foi efetuada por 11 dias, entre ED6 a ED11 houve o tratamento ou não dos camundongos CHP e CSP. Desta forma em cada grupo os camundongos CHP ou CSP foram sub-divididos em outros grupos: CHP e CHP+P; CSP e CSP+P. Os camundongos dos grupos CSP e CHP foram injetados (i.p) diariamente com solução salina NaCl 0,9% (1mg/kg/dia); os camundongos CSP+P e CHP+P foram injetados (i.p) diariamente com propranolol (20 mg/kg/dia) ou ICI-118,551 (10 mg/kg/dia). No ED12, foram efetuadas as análises comportamentais ou as coletas de sangue para estudos. Fármacos: Propranolol - antagonista β -adrenérgico não seletivo diluído em solução de NaCl 0,9%; usado na dose 20 mg/kg/dia por via i.p.; ICI-118,551 β 2-adrenérgico não seletivo diluído em solução de NaCl 0,9%; usado na dose 10 mg/kg/dia por via i.p.

Coleta de Sangue: a coleta de sangue foi realizada no ED12 de convivência e imediatamente após a decaptação em tubos de polipropileno contendo EDTA 10%.

Obtenção de NKs sanguíneas: Em relação à avaliação das células NK esplênicas, os baços dos animais foram removidos cirurgicamente após anestesia e mantidos em solução de RPMI estéril e gelado. Este órgão foi, então, lavado três vezes em RPMI estéril e macerado. Eppendorfs foram utilizados para a realização da contagem de células em câmara de Neubauer e só foram utilizadas as amostras que apresentaram viabilidade maior que 95%. A partir desta contagem, as células foram marcadas com anticorpos conjugados a fluorocromos para análise por citometria de fluxo. Células NK foram marcadas com CD49b conjugado com APC, CD3 conjugado com FITC e NpK46 conjugado com PE BD PharMingen (San Jose, CA). **Análise dos níveis séricos de IFN- γ :** os níveis séricos de IFN- γ foram analisados pela técnica de Elisa. **Análise estatística:** Os dados foram avaliados pelo teste de Bartlett para determinação da homogeneidade das variâncias, ou seja, se são paramétricos ou não paramétricos. Os dados paramétricos foram analisados por análise de variâncias (ANOVA) de uma via seguida pelo teste de Newman-Keuls de comparações múltiplas, para avaliação de contrastes. Os resultados não paramétricos foram analisados pelo teste "U" de Mann-Whitney ou por Kruskal-Wallis com sua própria resolução. O nível de significância adotado foi de 0,05. Todos os cálculos foram realizados com o emprego do *Software* estatístico *GraphPad Prism*. **Resultados:** O bloqueio dos receptores beta-adrenérgicos afeta a migração de NKs para o baço e o estresse modifica o perfil de citocinas. **Conclusões:** No modelo de estresse psicológico murino de convivência com companheiros doentes há uma supressão da imunidade inata, dados também observados em humanos, tais como em caregivers. Neste trabalho foi constatado que a migração de NKs foi afetada por uma via beta-adrenérgica dependente que altera os níveis de citocinas séricas nos animais que conviveram com conespecíficos doentes.

Apoio financeiro: CAPES e FAPESP

MORFODIFERENCIAÇÃO DO ÓRGÃO DE GENÉ, DURANTE O PROCESSO REPRODUTIVO DO CARRAPATO AMBLYOMMA SCULPTUM (ACARI:IXODIDAE)

SANTOS, MARCELO FRANCISCO DOS^{1,2}; SOARES, MAGNA APARECIDA MALTAURO¹; LALLO, MARIA ANETE²; BARROS-BATTESTI, DARCI MORAES³; SPADACCI-MORENA, DIVA DENELLE¹
1 Laboratório de Fisiopatologia, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil.
2 Universidade Paulista - UNIP, São Paulo, SP, Brasil.
3 Laboratório Especial de Coleções Zoológicas, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil.

Introdução e Objetivos: Carrapatos ixodídeos apresentam grande importância na transmissão de doenças infecciosas para o homem e para os demais animais, sendo considerado como o segundo vetor mais prevalente [1]. A oviposição, essencial para a disseminação desse artrópode, envolve uma estrutura especializada denominada órgão de Gené, encontrada exclusivamente em carrapatos. [2]. Trata-se de uma estrutura em forma de saco, que se everte durante a oviposição e que está localizada na região anterior do idiossoma dorsal das fêmeas, entre a base do gnatossoma e o escudo, na emarginação [3]. Esse órgão produz uma secreção cerosa que fornece aos ovos proteção contra a perda de água e o crescimento de microorganismos [4]. Ainda, tem a propriedade de manter os ovos agrupados e reduzir a absorção de pesticidas do ambiente [5]. Quando esse órgão é impedido de secretar essa substância sobre os ovos, a taxa de eclosão diminui notavelmente, mesmo em condições adequadas de temperatura e umidade [6]. Apesar do órgão de Gené já ter sido descrito em algumas espécies de carrapatos, o conhecimento da sua morfologia, desenvolvimento e função ainda não foram esclarecidos na

espécie *A. sculptum*. Portanto, este trabalho teve como objetivo a descrição morfológica do órgão de Gené, nas etapas iniciais do processo reprodutivo da espécie *A. sculptum*. Adicionalmente, técnicas histoquímicas permitiram a identificação de substâncias presentes no citoplasma das células que compõem esse órgão e que podem constituir a sua secreção. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados carrapatos *A. sculptum*, adultos, provenientes de uma colônia mantida no laboratório. Os carrapatos foram alimentados em coelhos (CEUAIB 1279/14). As fêmeas, ingurgitadas, foram utilizadas no momento que caíram do hospedeiro (oh de queda) e no 5º dia de queda. Foram utilizadas também fêmeas virgens/jejum. O órgão de Gené foi dissecado e fixado em formol-cálcio, para avaliação da morfologia (azul de metileno), para localização de glicoproteína (PAS) e de proteína total (azul bromofenol), e incluídos em historesina. A demonstração de lipídeos foi realizada pelo Sudan Black. Para tanto, o material foi fixado em formol-cálcio e pós-fixado em solução aquosa de tetróxido de ósmio a 1%. Para impedir a extração dos lipídeos o material não foi desidratado, passando imediatamente para uma mistura de água e historesina (1:1) e, em seguida, para historesina, quando foi incluído. O órgão foi disposto em molde de inclusão contendo historesina de tal forma que ficou distendido para a obtenção de cortes ao longo do maior eixo. Para o exame ao microscópio eletrônico de varredura (MEV), o órgão foi fixado em glutaraldeído a 2% em tampão cacodilato de sódio, pós-fixado em OsO₄ a 1% e processado de forma rotineira. No 5º dia de queda, o órgão também foi processado para microscopia eletrônica de transmissão (MET). Para tanto, foi fixado em glutaraldeído a 2% em tampão cacodilato de sódio, pós-fixado em OsO₄ a 2%, desidratado em etanol, em concentrações crescentes, e incluído em Epon. **Resultados e Discussão:** Os resultados obtidos revelaram que o órgão de Gené das fêmeas virgens/jejum, sob lupa e ao MEV, era uma estrutura saculiforme, constituída de um corpo e dois cornos posteriores (Figura 1A e 1B). Tanto ao MEV como nos cortes histológicos, foi observada a presença de um par de glândulas não desenvolvidas (broto glandular), em cada lado do órgão, que correspondia às glândulas cranial e caudal (Figura 1C, 1D e 1F). Nos cortes histológicos foi constatado que a estrutura saculiforme era constituída por células epiteliais e uma camada amorfa, cuticular, além de uma luz em direção à emarginação (Figura 1E). A reação para PAS foi positiva na região dos brotos glandulares (Figura 1F). Não foram observadas inclusões lipídicas. Em oh de queda, na região do broto glandular, foi registrado o início de desenvolvimento de glândulas constituídas por túbulos simples, contíguos ao corpo do órgão de Gené (Figura 2A). As células aí presentes eram cúbicas, com núcleo contendo um ou dois nucléolos proeminentes e citoplasma com poucas inclusões lipídicas, como observadas com o Sudan Black (Figura 2B, 2C e 2D). Na região de transição entre as células de revestimento do órgão e aquelas que estão formando as glândulas, foi observada reação positiva para PAS (Figura 2E), mas não para Sudan (Figura 2D). No 5º dia de queda, as glândulas se apresentaram em maior número, mais desenvolvidas e ramificadas (Figura 3A e 3B). As células que compunham as glândulas, colunares, apresentaram núcleo com cromatina condensada e presença de nucléolo (Figura 3C). Na luz das glândulas foi observada a presença de uma substância amorfa (Figura 3C e 3E). Entre essas células havia uma região mais clara que correspondia a interdigitações, como observada ao MET (Figura 3D). No citoplasma, a reação para PAS era positiva na maioria das células (Figura 3E). A reação para Sudan Black positiva foi observada principalmente na região apical das células (Figura 3F). Com relação às análises histoquímicas para proteínas totais (Azul de Bromofenol), o resultado foi negativo para os três grupos estudados. **Conclusões:** Os resultados obtidos mostraram que a morfologia do órgão de Gené de *A. sculptum*, em animais virgens, é semelhante à de outros ixodídeos já estudados e que o desenvolvimento das glândulas se faz de maneira contínua e progressiva até o início da oviposição.

Referências

- [1] SUCEN. Superintendência de Controle de Endemias. *Boletim Epidemiológico Paulista*, ago. 2006. Suplemento especial.
- [2] SCHÖL, H. et al. Morphology and structural organization of Gené's organ in *Dermacentor reticulatus* (Acari: Ixodidae). *Exp. Appl. Acarol.*, Amsterdam, v. 25, n. 4, p. 327-352, 2001.
- [3] BOOTH, T, F. Observation on the composition and biosynthesis of egg wax lipids in the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Exp. Appl. Acarol.*, Amsterdam, v. 14, n. 2, p. 137-149, May 1992.

[4] BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical. São Paulo: Instituto Butantan, 2006.

[5] BOOTH, T, F. Wax lipid secretion and ultrastructural development in the egg-waxing (Gené's) organ in ixodid ticks. *Tissue Cell*, v. 21, n. 1, p. 113-122, 1989.

[6] KAKUDA, H.; MÖRI, T.; SHIRAIISHI, S. Functional morphology of Gené's organ in *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae). *Exp. Appl. Acarol.*, Amsterdam, v. 16, n. 3, p. 263-275, Dec. 1992.

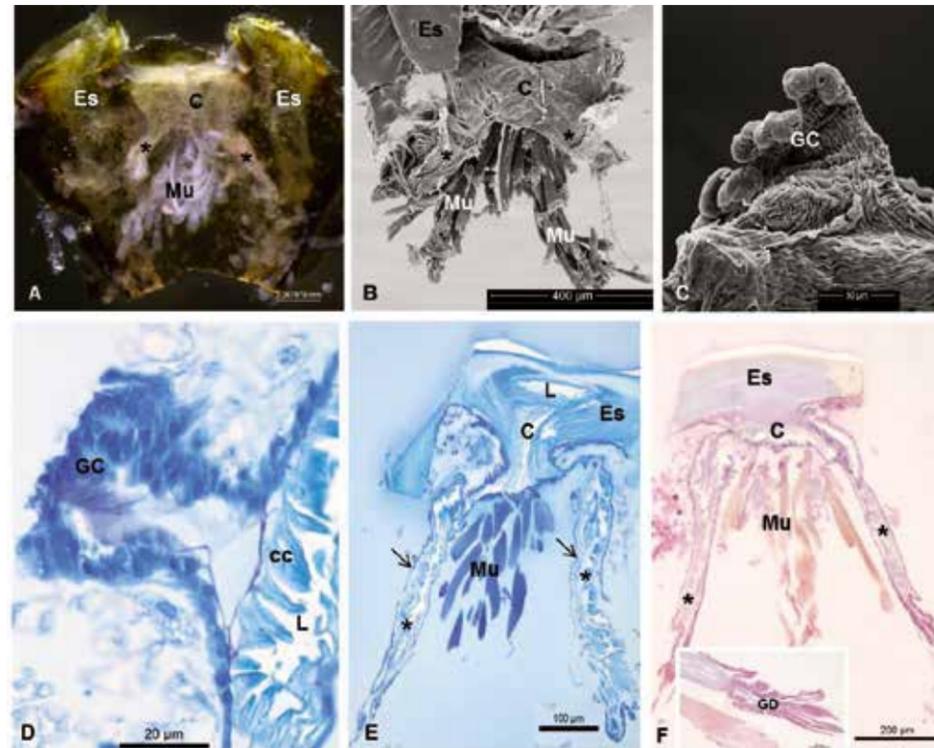


Figura 1 - Órgão de Gené de animal virgem/jejum

A - Órgão de Gené sob lupa. Corpo (C). Cornos posteriores (*). Músculos retratores (Mu). Escudo (Es).

B - Órgão de Gené onde é possível observar o corpo (C) e parte dos dois cornos posteriores (*). Músculos retratores (Mu). Escudo (Es). MEV.

D - Detalhe da glândula cranial não desenvolvida (GC). Cutícula (cc) Músculo (Mu). Escudo (Es). Luz (L). Azul de metileno.

F - Corte histológico do órgão de Gené. Corpo (C). Cornos posteriores (*). Músculo (Mu). Luz (L). Escudo (Es). PAS.

Inserto - Detalhe da glândula caudal não desenvolvida (GD). PAS.

Figura 2 - 0h de queda do hospedeiro

A - Notar a formação de glândulas tubulares (G). MEV.

B - Corte histológico mostrado uma parte do corpo (C) do órgão de Gené e início da formação de uma glândula tubular (G). Músculos retratores (Mu). Azul de metileno.

C - Detalhe das glândulas tubulares simples cujas células apresentam núcleos (N) com um ou mais nucléolos. Luz (L). Sudan Black.

D - Corte histológico mostrando parte do corpo (C) e transição de células de revestimento para células glandulares (T) Luz (L). Sudan Black.

Inserto - Detalhe mostrando inclusões lipídicas (*). Sudan Black.

E - Região de transição de células pavimentosas para cúbicas (T) onde as células são PAS positivas. Corpo (C).

Inserto - Detalhe da região de transição (T). Notar o aparecimento de células (*) que não são PAS positivas.

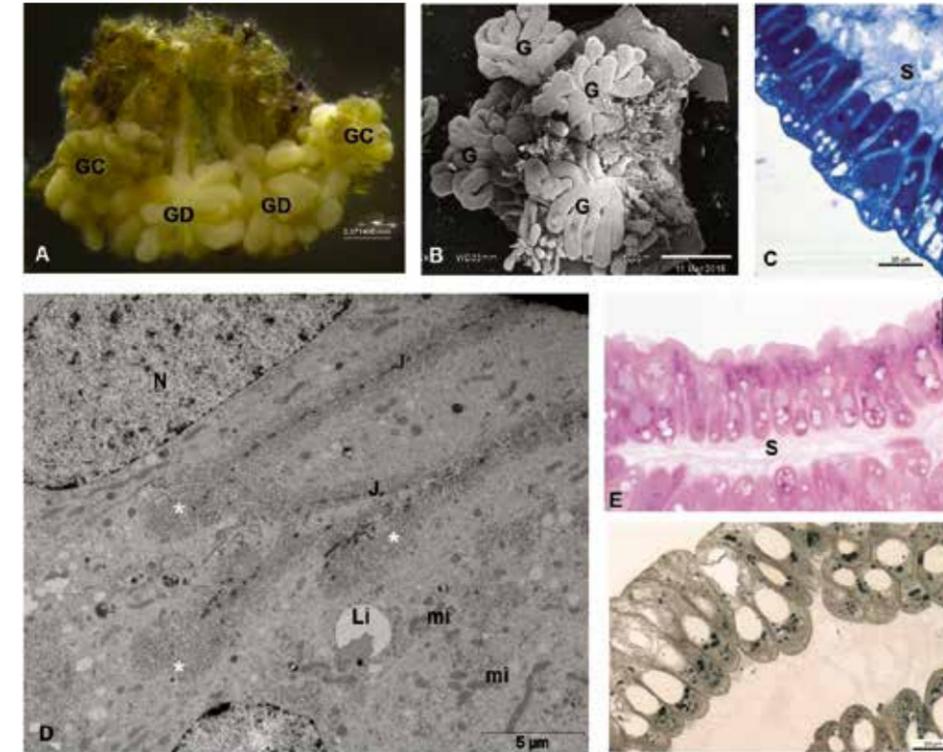
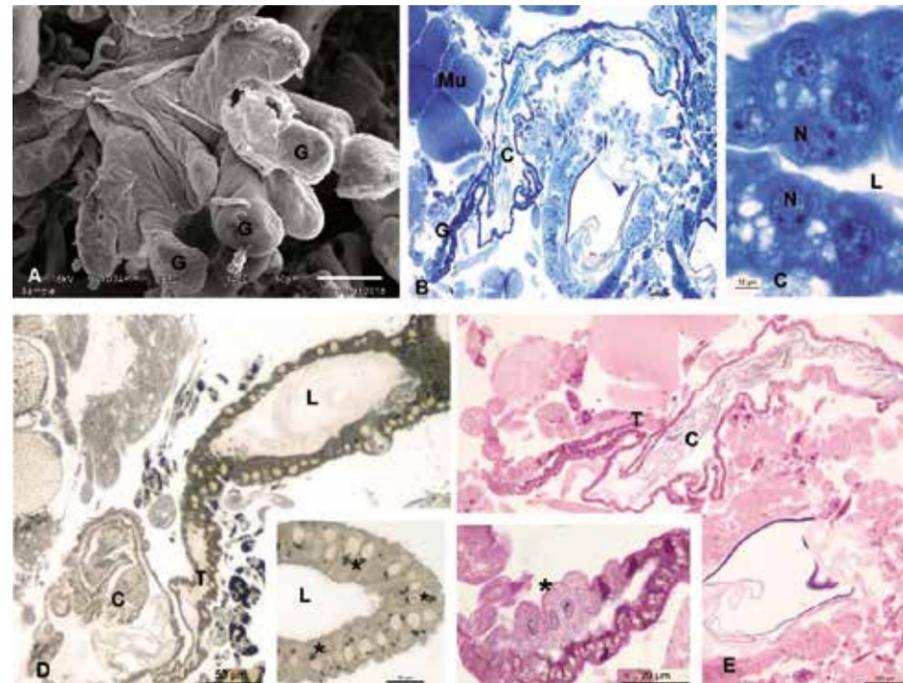


Figura 3 - 5º dia de queda do hospedeiro

A - Órgão de Gené sob lupa. Glândulas craniais (GC) e glândulas caudais (GD) já desenvolvidas.

B - Glândulas (G) com numerosas peças tubulares longas e ramificadas. MEV.

C - Detalhe das células que compõem as glândulas. Substância amorfa (S). Azul de metileno.

D - Nesta eletromicrografia, é possível observar que as regiões mais claras entre as células, observadas na fig.C, correspondem a interdigitações (*).

N- núcleo. mi- mitocôndria. Li- inclusão lipídica. J- junção. MET.

E - Notar que as células são positivas para PAS. Presença de substância amorfa (S), na luz das glândulas.

F - Grande quantidade de inclusões lipídicas são observadas no citoplasma das células que constituem as glândulas, mostradas pela reação por Sudan Black.

PROJETO EM ANDAMENTO: NEUROINVASIVIDADE E NEUROVIRULÊNCIA DO VÍRUS DA RAIVA EM AMOSTRAS DE SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE BOVINOS

CENTOAMORE, NATALIA HELENA FRADA¹; MAIORKA, PAULO CÉSAR¹; ASANO, KAREN MIYUKI²; ACHKAR, SAMIRA MARIA²; SCHEFFER, KARIN CORRÊA²; FAHL, WILLIAN DE OLIVEIRA²; MORI, CLÁUDIA MADALENA CABRERA¹; MORI, ENIO²

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

² Instituto Pasteur, São Paulo, SP, Brasil.

Introdução e Objetivos: A raiva está presente em todo o território brasileiro e possui importância na maioria dos estados, seja pelo seu caráter zoonótico (saúde pública), ou pelo seu caráter econômico, uma vez que é responsável por perdas à pecuária. O ataque de morcegos hematófagos aos bovinos acarreta em sérios prejuízos à pecuária, pois além dos animais mortos pela doença, os agredidos perdem peso e apresentam lesões em diversas partes do corpo, o que prejudica a qualidade do couro.[1] O vírus da raiva (RABV) não infecta todas as estruturas do sistema nervoso central (SNC) de modo uniforme. Vários estudos com resultados discordantes discutem quais seriam os fragmentos mais indicados para a detecção de antígenos virais. Os fragmentos que contêm antígenos de RABV com maior frequência podem variar de acordo com a patogenicidade, tropismo da amostra viral em questão e de acordo com a espécie animal.[2] O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), recomenda que para o diagnóstico da raiva sejam enviados fragmentos do cerebelo, córtex, medula oblonga, hipocampo e tálamo. [3] Com base nesses dados, o presente estudo foi delineado para verificar a neuroinvasividade, neurovirulência e carga viral do RABV em amostras de SNC de bovinos provenientes do Setor de Diagnóstico da Raiva do Instituto Pasteur.

Materiais e Métodos: Serão utilizadas amostras de encéfalo (tálamo, córtex, cerebelo e tronco encefálico – mesencéfalo, bulbo e ponte) de bovinos naturalmente infectados, provenientes do Setor de Diagnóstico da Raiva do Instituto Pasteur, durante o período de abril de 2015 a abril de 2016. A confirmação da presença do antígeno do vírus da raiva será realizada com o emprego da reação de imunofluorescência direta, tendo como parâmetros a distribuição antigênica e a intensidade das reações. O isolamento viral, tanto por inoculação intracerebral em camundongos, quanto em cultura celular (células de neuroblastomamurino - N2A), será realizado pelo Setor de Virologia do Laboratório de Diagnóstico do Instituto Pasteur/SP. Além destas técnicas de confirmação da presença de antígeno viral, também serão realizadas a imunistoquímica, a RT-PCR convencional e a RT-PCR em tempo real, que permitirão a obtenção da carga viral. Os fragmentos serão submetidos à avaliação histopatológica com a coloração de HE. **Resultados parciais:** Até o presente das amostras de SNC colhidas de 59 bovinos houve 16 animais que apresentaram positividade para o antígeno do vírus da raiva na técnica de IFD, representando 26,7% do total.

Há muita discussão a respeito da melhor região do SNC a ser utilizada para a realização do diagnóstico da raiva pela demonstração da presença de antígeno viral. A observação de uma distribuição antigênica mais na região de bulbo olfatório, tálamo e córtex, além disso o cerebelo apresentaria uma distribuição irregular e em pequena quantidade, variando de fraco positivo a negativo.[4] Porém, de acordo com o que pôde ser observado até o presente momento, o cerebelo não possui uma intensidade antigênica distinta das outras regiões analisadas (Tabela 1)

Há indicações de que a região de predileção de maior intensidade antigênica do RABV seria o tronco encefálico e particularmente o tálamo, sendo que outras regiões, como hipocampo, cerebelo e córtex poderiam resultar em falsos negativos.[3]

Tabela 1 – Intensidade da distribuição antigênica do vírus da raiva, avaliada pela reação de imunofluorescência direta aplicada a fragmentos do Sistema Nervoso Central de Bovinos segundo a região examinada

	Bulbo	Cerebelo	Córtex	Hipocampo	Mesencéfalo	Medula Oblonga	Ponte	Tálamo
1	NT	NT	++	+++	+	NT	NT	+
2	++	+	+	+	NT	NT	NT	++
3	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	++++
4	NT	NT	+++	NT	NT	NT	NT	NT
5	NT	NT	+++	NT	NT	NT	NT	NT
6	++	++	+++	+++	+++	NT	NT	+++
7	NT	+	+++	++	++	NT	NT	++
8	NT	NT	++	++	++++	NT	NT	+++
9	++	+	++	++	+++	NT	+	+++
10	+++	+++	+++	+++	+++	NT	NT	NT
11	NT	+++	+++	+++	+++	NT	NT	+++
12	++	+++	+++	+++	NT	NT	+	NT
13	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++
14	NT	+++	+++	++	+++	NT	NT	+++
15	+++	+++	+++	+++	+++	NT	+++	+++
16	+++	+	+	+	+++	NT	+	+++

NT: Fragmento ausente.

Com o que pôde ser observado até o momento as regiões com a melhor intensidade antigênica foram cerebelo, mesencéfalo e tálamo, indicando a importância dessas regiões, principalmente quando, por exemplo é considerado o animal 16, uma vez que a observação de uma intensidade 1 (+) cerebelo, córtex e hipocampo, poderia levar a resultados falsos negativos. Porém não podem ser excluídas as demais estruturas importantes para o diagnóstico do antígeno do RABV, principalmente quando é considerado o caso dos animais 4 e 5, em que apenas o córtex foi enviado para análise.

A análise da distribuição da intensidade é importante uma vez que nem todas as amostras de SNC recebidas apresentam todas as estruturas (Tabela 2).

Tabela 2 – Estrutura do Sistema Nervoso Central de bovinos encaminhada para a realização do diagnóstico laboratorial da raiva

ESTRUTURA	QUANTIDADE	
Bulbo	30/59	50,8%
Cerebelo	46/59	77,97%
Córtex	58/59	98,31%
Hipocampo	54/59	91,53%
Medula Oblonga	06/59	10,17%
Mesencéfalo	49/59	83,05%
Ponte	27/59	45,76%
Tálamo	51/59	86,44%

Quando ao isolamento viral, dos 57 bovinos trabalhados até o presente, pelo menos os animais que apresentaram positividade na IFD também apresentaram positividade no isolamento viral, em pelo menos uma das técnicas, cultivo celular ou inoculação intracerebral em camundongos (Tabela 3).

Tabela 3 – Resultados dos exames laboratoriais aplicados ao diagnóstico da raiva em materiais provenientes de bovinos, segundo o tipo de exame laboratorial efetuado

	IFD	Cultivo Celular	Inoculação em Camundongos
1	Positivo	Positivo	-
2	Positivo	Positivo	-
3	Positivo	Positivo	-
4	Positivo	Positivo	-
5	Positivo	Positivo	-
6	Positivo	Positivo	-
7	Positivo	Positivo	-
8	Positivo	Positivo	-
9	Positivo	Positivo	-
10	Positivo	-	Positivo
11	Positivo	Positivo	Positivo
12	Positivo	Positivo	-
13	Positivo	Positivo	-
14	Positivo	Positivo	-
15	Positivo	Positivo	-
16	Positivo	Positivo	-

Os animais que apresentaram positividade para o antígeno viral do RABV foram a óbito em sua maioria por morte natural (62,5%), após um período médio de evolução da doença de 104 horas. Os animais acometidos tinham em média 18 meses de idade, sendo que dos 16 bovinos, oito foram vacinados contra a raiva e destes a metade, recentemente, indicando que talvez os animais não tivessem desenvolvido a imunidade necessária para impedir a instalação e o desenvolvimento da doença.

Os animais eram provenientes principalmente da região fronteira com o estado de Minas Gerais, região considerada pelo Escritório de Defesa Agropecuária (EDA) como área epidêmica para a ocorrência de raiva (12/16), os outros casos eram originários da área considerada como endêmica (4/16). Os locais de procedência são apresentados na tabela 4.

Origem	
Franca	1
Ituverava	1
Patrocínio Paulista	1
Itatiba	2
Itararé	3
Socorro	8

Tabela 4 – Municípios de origem dos bovinos, cujo sistema nervoso central foi enviado ao Instituto Pasteur de São Paulo, para a realização de provas laboratoriais aplicadas ao diagnóstico da raiva

Conclusões: Até o presente, dentre os fragmentos do SNC de bovinos, examinados para a confirmação do diagnóstico da raiva os que apresentaram a maior intensidade de marcação antigênica na IFD foram cerebelo, mesencéfalo e tálamo. Além disso, o caso em que a positividade pela IFD nas regiões preconizadas pelo MAPA foi fraca, ou seja, foram observadas poucas inclusões virais, poderia ter resultado em um falso negativo, o que ressalta a importância de que pelo menos uma parte do tronco encefálico também seja encaminhada para o diagnóstico da raiva.

O isolamento viral em cultivo celular foi menos sensível que a técnica de IFD, mas é importante salientar que o cultivo celular ainda não foi totalmente padronizado para herbívoros, o que pode explicar tal resultado.

Apoio financeiro: O presente estudo tem auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (133132/2015-3) e Instituto Pasteur/SP.

Referências

[1] ACHKAR, S. M. et al. Sensibilidade da técnica de imuno-histoquímica em fragmentos de sistema nervoso central de bovinos e equinos naturalmente infectados pelo vírus da raiva. *Pesq. Vet. Bras.*, Rio de Janeiro, v. 30, n. 3, p. 211-218, Mar. 2010.

[2] MARTELL M. A. Estudio de inmunofluorescencia de diferentes segmentos de encéfalos de bovinos muertos de rabia paralitica o derriengueen forma natural e inoculados experimentalmente. *Tec Pec Mex.*, v. 12, p. 24-27, 1969.

[3] MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual técnico:** procedimentos para o diagnóstico das doenças do sistema nervoso central dos bovinos. Brasília: MAPA/SDA/DDA, 2003. 50 p.

[4] BINGHAM, J.; VAN DER MERWE, M. Distribution of rabies antigen in infected brain material: determining the reliability of different regions of the brain for the rabies fluorescent antibodytest. *J Virol Methods*, v. 101, n. 1-2, p. 85-94, 2002.

CASTRACÃO QUÍMICA DE GALOS ADULTOS: MODELO ANIMAL PARA CONTROLE POPULACIONAL DE AVES SINANTRÓPICAS

OLIVEIRA, MIRELA CAROLINE VILELA¹; KAWAOKU, ALISSON JUN TAGUCHI¹; FREDIANI, MAYRA HESPANHOL¹; FERNANDES, CRISTIANO ALVES²; PEREIRA, RICARDO JOSÉ GARCIA¹; MARQUES DE SÁ, LILIAN ROSE¹; KNOBL, TEREZINHA¹

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

² Médico Veterinário autônomo.

Introdução e Objetivos: Estudos sobre castração química no Brasil referem-se à espécie canina e apresentam resultados promissores, sendo considerada atualmente como uma nova alternativa para o controle populacional desta espécie.[1],[2] Os trabalhos sobre caponização de aves podem ser uma alternativa para o controle populacional de pombos e outras espécies sinantrópicas. Desta forma, o presente trabalho propõe o galo como modelo animal para avaliação dos efeitos da castração química.

As condições climáticas e a disponibilidade de alimentos no Brasil são características que propiciam ao país uma alta biodiversidade de fauna e flora. Fatores ambientais, educacionais e sanitários estão relacionados direta ou indiretamente com a presença de animais sinantrópicos nos grandes centros urbanos, os quais podem representar um risco de saúde pública, quando participam como fontes de infecção ou reservatórios de doenças de caráter zoonótico.[3]

Até o momento são descritas mais de 200 zoonoses, sendo geradas por diversos

patógenos (bactérias, vírus, fungos, parasitas).[4] Muitas destas zoonoses estão associadas à presença de pombos em áreas urbanas e a tentativa de controle populacional por leigos têm tornado frequentes os relatos de envenenamento. Em decorrência dos diversos transtornos gerados pelos animais sinantrópicos foi instituída a Instrução Normativa Ibama nº 141 de 19 de dezembro de 2006 que tem a finalidade de regulamentar o controle e o manejo ambiental da fauna sinantrópica nociva.

Perante a deficiência de medidas eficientes de controle populacional, o presente trabalho foi delineado para analisar os efeitos da castração química com gluconato de zinco em galos adultos como método alternativo para espécies que apresentam exacerbado crescimento populacional, e que representam risco à saúde pública.

Materiais e Métodos: Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Uso Animal da FMVZ-USP. O produto utilizado para castração química foi o Infertile®, composto por gluconato de zinco e dimetilsulfoxido (DMSO).

Foram utilizados cinco galos adultos da linhagem Hisex. O procedimento adotado para a avaliação da produção de espermatozoides e o efeito da castração foi a realização de uma análise espermática semanal durante três semanas antes e três semanas após a intervenção cirúrgica, totalizando 6 análises. O sêmen foi coletado por meio de massagem manual.[5] Após a coleta, o sêmen foi diluído para análise de motilidade e vigor. A concentração espermática foi determinada em câmara de Neubauer com 10 µL de sêmen diluído em formol salina (FS). O mesmo volume foi utilizado para análise morfológica em câmara úmida. A integridade de membrana foi testada com uso de corantes eosina e nigrosina, cujo protocolo adotado foi de 5µL de eosina/nigrosina misturadas com 5µL de sêmen diluído por cerca de 30 segundos.

Após as avaliações as aves foram submetidas à técnica de laparoscopia com uso de anestesia inalatória (máscara de isoflurano). Realizada uma incisão de 3 cm na pele entre o segundo e terceiro espaço intercostal, divulsão do músculo e tracionamento das costelas para aplicação intratesticular de 200µL do Gluconato de Zinco (Infertile®). A síntese do espaço intercostal e da pele foi realizada com fio nylon 2.0, em ponto simples contínuo. A avaliação de dor foi realizada desde o momento da indução anestésica até 72 horas de pós-cirúrgico. Decorridos 70 dias da aplicação do infertile, os animais foram submetidos a eutanásia e os seus testículos foram coletados para a realização do exame histopatológico. Os testículos foram mantidos em fixador metacarn, emblocados em parafina e as lâminas coradas com hematoxilina/eosina.

Resultados e Discussão: A dose do produto injetada normalmente é associada ao tamanho do testículo dos animais, sendo a menor dose de 0,5mL em cães filhotes.[1] Devido à ausência de parâmetro para aves, foi inferido, com base no tamanho testicular, um volume 0,2mL injetado em cada testículo. O tempo cirúrgico foi, em média, de 20 minutos para cada lado. A técnica foi considerada simples, mas o custo de anestésicos foi elevado. A dificuldade de acesso e o risco de sangramento também devem ser considerados como aspectos limitantes da técnica para uso em populações.

No momento cirúrgico os parâmetros avaliados para análise de dor foram frequência cardíaca, frequência respiratória e pressão arterial. Após a cirurgia foram observados o comportamento dos animais segundo a escala de dor proposta por Paula e Sakai,[6] na qual obtiveram resultado negativo para dor. Os dados do espermograma são apresentados na tabela 1. Observou-se azospermia em 2/5 galos na primeira coleta, com diminuição da resposta à massagem manual. Outros dois animais apresentaram comportamento de choco e diminuição da vocalização, mas mantiveram-se responsivos à massagem cloacal. Apenas uma ave manteve o seu comportamento reprodutivo preservado. Todas as aves tiveram diminuição do vigor e concentração espermática. Em relação à morfologia, houve aumento de defeitos maiores, os quais estão relacionados com a capacidade de fertilização.

Tabela 1 - Médias das análises espermáticas de galos submetidos à castração química com o Infertile.

	Pré-cirúrgico				Defeitos de morfologia (%)		
	Volume	Motilidade	Vigor	Concentração	Normais	Maiores	Menores
Galo 1	186,3	71,7	3,3	0,7	95,3	4,1	0,3
Galo 2	217,0	93,3	4,3	2,1	97,8	1,5	0,1
Galo 4	130,0	90,0	4,0	1,5	96,6	3,0	0,3
Galo 6	282,3	83,3	4,0	1,8	95,3	3,3	1,0
Galo 8	285,0	88,3	4,0	2,1	92,6	6,3	0,5

	Pós-cirúrgico				Defeitos de morfologia (%)		
	Volume	Motilidade	Vigor	Concentração	Normais	Maiores	Menores
Galo 1	43,3	46,7	2,0	0,6	90,6	7,9	1,5
Galo 2	206,7	75,0	2,7	2,3	94,1	4,6	1,0
Galo 4	303,3	81,7	3,0	1,0	86,1	10,8	2,8
Galo 6	273,3	66,7	2,7	0,3	79,2	18,0	2,8
Galo 8	183,3	46,7	1,7	1,0	89,6	8,8	1,5

Na necropsia foram observadas alterações macroscópicas nos testículos, com aparecimento de áreas de constrição no local da aplicação e leve aderência (Figura 1).

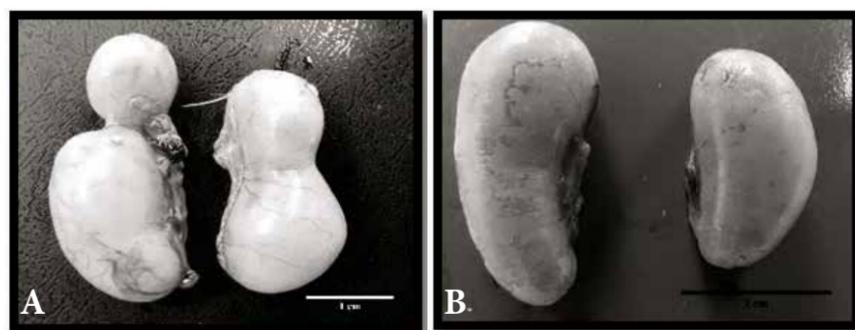


Figura 1 - A: aspecto macroscópico dos testículos após 70 dias da castração química com a aplicação do infertile; B: testículos do galo controle.

O exame histopatológico revelou fibrose focalmente extensiva no local da aplicação e com os túbulos seminíferos ao redor exibindo redução do tamanho, degeneração do epitélio com ausência das espermatogônias, comprometidos bilateralmente até 2/3 do local da aplicação central. As áreas da extremidade dos órgãos próximas às cápsulas mantiveram a arquitetura histológica conservada com epitélio germinativo e de sustentação. As alterações histológicas indicam que a aplicação do gluconato causa lesão localizada extensa que compromete até 2/3 do testículo, mas há túbulos com o epitélio preservado. As alterações exibem características degenerativas que podem possivelmente serem reversíveis e, desta forma, os efeitos podem ser transitórios.

Os resultados obtidos revelaram a existência de uma diminuição da qualidade espermática das aves. O experimento deverá ser ampliado com vistas a determinação de doses mais efetivas para uma abordagem não cirúrgica. Outro ponto importante será a avaliação da duração dos efeitos sobre a fertilidade dos animais, uma vez que nas condições deste estudo a azospermia foi transitória. De modo geral, a castração química apresentou resultados promissores para dar seguimento a uma abordagem mais aprofundada sobre esta nova metodologia, a fim de promover uma redução gradual de pombos nos grandes centros urbanos, que por sua vez irá se refletir na relação saúde doença, diminuindo a probabilidade de transmissão de zoonoses a população.

O presente estudo teve auxílio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), e colaboração dos departamentos de Patologia Experimental e Comparada (VPT) e do Departamento de Reprodução Animal (VRA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP).

Referências

- [1] SOTO, F. R. M. et al. Evaluation of efficacy and safety of zinc gluconate associated with dimethyl sulphoxide for sexually mature canine males chemical neutering. **Reprod. Domest. Anim.**, Berlin, v. 44, n. 6, p. 927-931, Dec. 2008.
- [2] SOTO, F. R. M. et al. Evaluation of zinc gluconate, either associated or not to dimethyl sulfoxide, as contraceptive method for male dogs. **J. Anim. Reprod.**, v. 4, n. 3/4, p. 119-124, July/Dec. 2007.
- [3] ACHA P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3. ed. Washington: OPAS/OMS, 2003.
- [4] WHO. **Zoonoses**. Disponível em: <http://www.who.int/zoonoses/en>. Acesso em: 5 mar. 2014.
- [5] BUIRROWS, W. H.; QUINN, J. P. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. **Poult. Sci.**, v. 16, n. 1, p. 19-24, 1937.
- [6] PAULA, V. V.; SAKAI, D. M. Tratamento da dor em aves. In: FANTONI, D. **Tratamento da dor na Clínica de Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. p. 445-456.

MONITORAMENTO DE ESTIRPES VIRULENTAS DE ARCOBACTER SPP. EM JACARÉS (CAIMAN YACARE) DESTINADOS AO ABATE E CONSUMO

OLIVEIRA, MARIA GABRIELA XAVIER DE¹; PRESSINOTTI, LEANDRO NOGUEIRA²; CARVALHO, GIOVANE SPÍNOLA DE.³; OLIVEIRA, MIRELA CAROLINE VILELA¹; MORENO, LUISA ZANOLLI¹; MATAJIRA, CARLOS EMILIO CABRERA.¹; BERGAMO, ALESSANDRO SPÍNOLA³; ALEIXO, VICTOR MANUEL²; VEIGA, ALEXANDRE CAIXETA³; CORSINO, ELVIS DE SOUZA²; MORENO, ANDREA MICKE.¹; KNOBL, TEREZINHA¹

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (Avenida Professor Dr. Orlando Marques de Paiva, 87 - Cidade Universitária São Paulo - SP)

²Instituto Federal de Mato Grosso Campus Cáceres (Avenida dos Ramires s/ nº - Distrito Industrial - Cáceres - MT (65) 3221-2600

³Universidade do Estado de Mato Grosso (Rod MT 358, KM 07)

Introdução e Objetivos: A exploração comercial de jacarés no Brasil tem considerável potencial econômico, e nos últimos anos se destacou pela capacidade de produção de carne e couro.[1] Visando a conservação ambiental e a possibilidade de produção de outras espécies animais para consumo humano, a criação de jacarés-do-pantanal (*Caiman yacare*) foi implantada recentemente na região do pantanal mato-grossense em sistema de produção fechada.[2] Contudo, são escassos os dados relativos ao manejo sanitário e a presença de possíveis patógenos nesta espécie animal. Os riscos relativos a esta cadeia de produção e o impacto na Saúde Pública ainda são pouco explorados.

Bactérias da família Campilobacteriaceae são responsáveis por provocar infecções alimentares em todo o mundo.[3] O gênero *Arcobacter* spp. é emergente e está relacionado à contaminação de produtos de origem animal.[4]

O objetivo deste trabalho foi pesquisar a presença de espécies virulentas de *Arcobacter* spp. com potencial zoonótico nas fezes de jacarés cativos, destinados ao abate. **Materiais e Métodos:** Foram coletados 40 swabs de cloaca de jacarés-do-pantanal (*Caiman yacare*). O material foi homogeneizado em 2 mL de água peptonada e 1mL desse caldo foi semeado em 9 mL de meio Johnson Murano (JM),[5] agitados por 15 segundos. Os tubos foram incubados em aerobiose por 48 h. a 30°C. Após a incubação, uma alíquota de 10µL do caldo foi depositada sobre uma membrana estéril de celulose (0,45µm) e transferida para a superfície do ágar seletivo JM. Após uma hora, o filtro foi retirado e a placa foi estriada, incubada em aerobiose por 48 a 72 h. a 30°C.

As colônias com características de *Arcobacter* foram submetidas à identificação com a reação em cadeia pela polimerase (PCR) e estocadas a -80°C. As espécies *A. butzleri* e *A. cryaerophilus* foram identificadas pela PCR e confirmadas pela técnica MALDI-TOF MS.

A pesquisa dos fatores de virulência adotou os procedimentos preconizados por Doudah et al.,[6] para amplificação de genes codificadores de adesão (*cadF* e *cj1349*), invasão (*ciaB*), fosfolipase (*pldA*), hemolisina (*tlyA*), gene regulador de proteínas de membrana externa associadas à captação de ferro (*irgA*), filamento de hemaglutinina (*hecA*), gene codificador de ativação de proteína hemolisina (*hecB*) e o marcador de virulência *mviN*.

Resultados e Discussão: Os resultados da PCR e MALDI-TOF MS confirmaram 37,5% (15/40) amostras positivas para *A. butzleri* e 50% (20/40) *A. cryaerophilus*. Destaca-se ainda que 22,5% (9/40) das amostras foram positivas para o gênero *Arcobacter*, sem identificação da espécie. O gênero *Arcobacter* é composto por dezessete espécies, mas apenas as espécies *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* e *A. skirrowii* são patogênicas para o homem e animais [7] Este trabalho relata, pela primeira vez, o isolamento de espécies patogênicas de *Arcobacter* em jacarés cativos. Estudos sobre a microbiota de animais vertebrados estão concentrados em mamíferos, o que dificulta a

diferenciação de agentes comensais e patogênicos em répteis [8]. Ramos et al. [9] analisando a microbiota entérica de jacarés, verificaram o predomínio de bactérias da família Enterobacteriaceae, com identificação dos gêneros *Citrobacter* spp., *Providencia* spp., *Escherichia* spp., *Proteus* spp., *Morganella* spp., *Serratia* spp. e *Edwardsiella* spp., além de bactérias não fermentadoras de açúcar: *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp., *Acinetobacter* spp. e bactérias Gram positivas *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. e *Bacillus* spp. Até o presente momento não há relatos de literatura sobre o isolamento de bactérias da família Campylobacteriaceae nestes animais.

Para determinação do potencial zoonótico, os isolados foram submetidos à pesquisa de fatores de virulência que exercem importante papel na patogenicidade das infecções por *Arcobacter* spp. Obteve-se o seguinte resultado (Tabela 1):

Tabela 1 - Amostras positivas para fatores de virulência de *Arcobacter* spp.

Categoria	Gene	Amostras positivas
Adesão	<i>cadF</i>	38/40
	<i>cj1349</i>	38/40
Invasão	<i>ciaB</i>	38/40
Fosfolipase	<i>pldA</i>	39/40
Hemolisina	<i>tlyA</i>	38/40
Regulador de ferro	<i>irgA</i>	0/40
Hemaglutinina	<i>hecA</i>	21/40
Ativador de Hemolisina	<i>hecB</i>	16/40
Marcador de virulência	<i>mviN</i>	40/40

Todos os isolados foram positivos para o marcador de virulência de *Arcobacter* spp (*mviN*). A frequência de genes relacionados à adesão, invasão, hemolisina e fosfolipase variou de 95 a 100%. O gene de hemaglutinina foi detectado em 52,5% e o ativador de hemolisina em 40% dos isolados. Todos os isolados foram negativos para o gene codificador de ferro. Os mecanismos de virulência estudados já foram encontrados em estirpes de *Arcobacter* spp. isoladas de seres humanos que tiveram diarreia após consumirem alimentos de origem animal no Sul do Irã [10]. Novos estudos são necessários para determinar os fatores de risco desta cadeia produtiva, uma vez que a contaminação pode estar relacionada às características de recinto e hábito semi-aquático, ou ainda, à alimentação dos animais com vísceras de bovinos. **Conclusão:** A detecção das estirpes virulentas de *Arcobacter butzleri* e *Arcobacter cryaerophilus* em jacarés serve de alerta para produtores e consumidores, uma vez que se trata de um agente patogênico, emergente e capaz de causar toxi-infecções alimentares.

Apoio financeiro: Fapesp 2014/06584-7 e Capes.

Referências

- [1] GONÇALVES, F. S.; VILELA, M. P. M.; BASSETTI, L. A. B.; VERDADE, L. M. **Manejo de Jacarés-de-Papo-Amarelo (*Caiman latirostris*) em Cativeiro**. São Paulo: Laboratório de Ecologia Animal, LPA/ESALQ/USP, 2015. p.1-18.
- [2] AVEIRO, A. V. D. **Criação de jacaré em cativeiro (dossiê técnico)**. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas - SBRT, 2012.
- [3] VANDAMME, P.; DE LEY, J. Proposal of a new Family, Campylobacteriaceae. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 41, p. 451-455, 1991.
- [4] SNELLING, W. J.; MATSUDA, M.; MOORE, J. E.; DOOLEY, J. S. G. Under the microscope: *Arcobacter*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 42, p.7-14, 2006.
- [5] JOHNSON, L. G.; MURANO, E. A. Development of a new medium for the isolation of *Arcobacter* spp. **Journal of Food Protection**, v. 62, n. 5, p. 456-462, 1999.

[6] DOUIDAH, L.; De ZUTTER, L.; VANDAMME, P.; HOUF, K. Identification of five human and mammal associated Arcobacter species by a novel multiplex-PCR assay. **J. Microbiol. Methods**, v. 80, p. 281-286, 2010.

[7] NEWELL, D.G. *Campylobacters, Helicobacters* and Related organisms- Disease associations in pigs. **The Pig Journal**, v. 39, p. 102, 1997.

[8] KEENAN, S. W.; ENGEL, A. S.; ELSEY, R. M. The alligator gut microbiome and implications for archosaur symbioses. **Scientific Reports**, v. 3, p. 1-8, 2013.

[9] RAMOS, M. C. C.; MATUSHIMA, E. R., VERDADE, L. M., CARVALHO, V. M., SANCHES, F. F. Microbiota bacteriana aeróbica oral de jacarés-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*): implicações no manejo em cativeiro. p. 33-42. In: WORKSHOP SOBRE CONSERVAÇÃO E MANEJO DO JACARÉ-DE-PAPO-AMARELO (*CAIMAN LATIROSTRIS*), 2., Piracicaba, 1992. *Anais*. 1992.

[10] TABATABAEI, M.; ASKI, H. S.; SHAYEG, H.; KHOSHBAKHT, R. Occurrence of six virulence-associated genes in Arcobacter species isolated from various sources in Shiraz, Southern Iran. **Microbial Pathogenesis**, v. 66, p. 1-4, 2014.

IMUNOMARCAÇÃO DE METALOPROTEINASE 2 E 9 E SEUS RESPECTIVOS INIBIDORES TECIDUAIS COMO POTENCIAIS INDICADORES PROGNÓSTICOS PARA MASTOCITOMAS CUTÂNEOS CANINOS

PULZ, LIDIA HILDEBRAND^{1,5}; BARRA, CAMILA NERI^{1,5}; KLEEB, SILVIA REGINA²; XAVIER, JOSÉ GUILHERME³; CATÃO-DIAS, JOSÉ LUIZ¹; SOBRAL, RENATA AFONSO⁴; FUKUMASU, HEIDGÉ⁵; STREFEZZI, RICARDO DE FRANCISCO⁵.

1 Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

2 Universidade Metodista de São Paulo, São Bernardo do Campo, Brasil.

3 Universidade Paulista, São Paulo, São Paulo, Brasil.

4 Onco Cane Veterinária, São Paulo, São Paulo, Brasil.

5 Laboratório de Oncologia Comparada e Translacional, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, São Paulo, Brasil.

Introdução e Objetivos: O mastocitoma cutâneo canino (MCT) apresenta comportamento biológico variável: alguns tumores demonstram características benignas, enquanto outros crescem de forma agressiva e metastática.1-4 O auxílio de indicadores prognósticos complementares aos sistemas de classificação histopatológicos propostos por Patnaik, Ehler e Macewen² and Kiupel et al.⁵ podem tornar as avaliações mais precisas e reduzir as variabilidades intra e inter-observadores. As metaloproteínas de matriz (MMPs) são enzimas fundamentais para a progressão das neoplasias, pois favorecem a degradação da matriz extracelular e, conseqüentemente, o processo de metastatização.6,7 Sendo assim, a caracterização da expressão das MMPs pode ser uma potencial ferramenta prognóstica para animais com MCTs. As MMPs 2 e 9, conhecidas como gelatinases, destacam-se pela sua capacidade de degradar colágeno tipo IV, um dos principais componentes da membrana basal.8 MMP-2 também é capaz de hidrolisar alguns colágenos, laminina e TGF-β. Já a MMP-9 é expressa por leucócitos polimorfonucleares (PMNL), macrófagos e endotélio, atuando sobre colágenos, proteoglicanos e elastina.9 A atividade das MMPs é regulada por enzimas denominadas Inibidores Teciduais de Metaloproteínas (TIMPs).10 TIMP-1 e TIMP-2 inibem a ação das gelatinases MMP-9 e 2 respectivamente.8,11

O presente trabalho foi delineado para caracterizar a expressão imuno-histoquímica da MMP-2 e MMP-9, bem como os seus inibidores teciduais, TIMP-2 e TIMP-1, em mastocitomas cutâneos caninos, e verificar sua associação com os tipos histopatológicos, mortalidade relacionada à doença e sobrevida pós-cirúrgica.

Materiais e Métodos: Foram avaliados 53 mastocitomas removidos de 46 cães provenientes dos Hospitais Veterinários da FMVZ-USP, Universidade Metodista e da Clínica Veterinária Onco Cane.

Durante o acompanhamento foram registrados as variáveis: idade, sexo, raça, uso de quimioterapia, recidiva, sobrevida e *causa mortis*, quando aplicável.

Foram analisados separadamente 12 cães que receberam quimioterapia adjuvante. Os mastocitomas foram classificados de acordo com os critérios de Patnaik, Ehler e Macewen² e Kiupel et al.⁵ Os tumores foram fixados em formalina tamponada a 10% e processados rotineiramente. Os cortes foram incubados com anticorpos primários policlonais de coelho anti-MMP-2 (1:200) e anti-MMP-9 (1:300) e anticorpos monoclonais de camundongo anti-TIMP-2 (1:100) e anti-TIMP-1 (1:100), seguido pela aplicação de anticorpo secundário biotililado e, posteriormente, complexo estreptavidina-peroxidase, segundo indicação do fabricante (LSAB; Dako Cytomation). Para o controle negativo, o anticorpo primário foi substituído por IgG normal de mesma espécie e concentração. Os cortes foram avaliados quantitativamente pela percentagem média de mastócitos positivos em cinco campos de maior aumento (400x) selecionados a partir de áreas com o maior percentual de células marcadas (*"hot spots"*). Os resultados foram comparados pelo teste ANOVA/Kruskal-Wallis, seguido pelo pós-teste de Dunn. As associações foram avaliadas pelo teste Exato de Fisher. Dados de sobrevida foram analisados com o método de Kaplan Meier e teste log-rank. O modelo de riscos proporcionais de Cox foi utilizado para comparar múltiplos marcadores. Teste de Spearman foi usado para avaliar a positividade dos PMNL. O nível de significância foi fixado em 5%. **Resultados e Discussão:** Os cães sem raça definida foram os mais representativos, seguidos por Boxers e Labradores Retrievers. Quando classificados pelos critérios de Patnaik et al. (1984) [2], cerca de 19% dos MCTs eram grau I, 49% grau II e 32% grau III. Utilizando o sistema de Kiupel et al. (2011)[5] 54,7% dos MCTs eram de baixo grau e 45,3% de alto grau. O acompanhamento variou de 3 a 2670 dias. Durante este período, 15 cães morreram devido ao MCT e 15 devido a outras causas. Assim como referido por diversos autores, a utilização de imunoistoquímica permitiu a demonstração dos padrões de distribuição e localização celular das MMP-2 e 9, e dos TIMPs 2 e 1 no MCT canino, bem como, a quantificação e a expressão das quatro proteínas estudadas nos mastócitos neoplásicos, nos fibroblastos, leucócitos polimorfonucleares e endotélio vascular intratumorais [12,13,14,15]. O uso desta técnica na busca de um índice prognóstico para os mastocitomas fornece uma maneira menos subjetiva para a determinação do curso da doença, sem que haja aumentos substanciais no tempo e custo [16]. A positividade de fibroblastos estromais e células endoteliais para as metaloproteínas é confirmada pelos dados presentes em literatura que demonstram fatores angiogênicos induzindo a expressão das MMPs no endotélio e no estroma celular [17,18]. Os níveis elevados de expressão de diversas MMPs, dentre elas as MMPs 2 e 9 e TIMPs (TIMP-1 , 2 e 3), nos fibroblastos associados ao tumor geralmente estão relacionados à um maior risco de metástases distantes [19,20]. Não foi encontrada associação entre os sistemas de classificação histopatológicos e a imuno-positividade para qualquer uma das proteínas avaliadas.

Os resultados obtidos demonstram que a baixa expressão imuno-histoquímica de TIMP-1 (inferior a 22,9%) é um indicador de menor sobrevida pós-cirúrgica (P = 0,0136). O risco de morte devido ao MCT é 3,3 vezes maior nos casos com menos de 22,9% de mastócitos positivos para TIMP-1. Mesmo quando os animais submetidos à quimioterapia foram adicionados, a expressão de TIMP-1 ainda foi considerada um bom indicador de sobrevida (P = 0,0105).

Alterações no microambiente tumoral podem influenciar a progressão do câncer por meio de interações efetuadas entre MMPs e TIMPs fazem com que as células superem os obstáculos fisiológicos [21, 22, 23,24]. Têm sido constatado que os TIMPs impedem a disseminação do tumor por inibição das MMPs, pela supressão da angiogênese e por desencadear a apoptose de células malignas

[25,26]. Experimentos in vitro demonstraram que a superexpressão de TIMP-1 tem propriedades antineoplásicas, por exemplo, em hepatocarcinoma [27] e melanomas [28]. Além disso a utilização de modelos in vivo demonstrou que níveis elevados de TIMP-1 exógeno inibem crescimento celular e angiogênese em tumores de aloenxerto de murino [29]. Aresu et al. (2011) [12] avaliaram a expressão gênica de TIMP-1 em tumores de mama de cadelas e também encontraram que a alta expressão de TIMP-1 teve um discreto efeito protetivo. Adicionalmente, as expressões imunoistoquímicas nos mastócitos e leucócitos polimorfonucleares apresentaram correlação positiva para todos os marcadores testados (MMP-2, P=0,0435; MMP-9, P=0,0003; TIMP-2, P=0,0281; TIMP-1, P<0,0001). É provável que essas células possam colaborar na remodelação do estroma, mas estudos futuros são necessários para a confirmação desta hipótese e elucidação da razão para essa correlação, bem como, para determinar se os mastócitos neoplásicos podem estimular ou aumentar a produção estromal de MMPs e TIMPs, contribuindo para a progressão do tumor.

Foi constatado que as expressões de MMP-2, MMP-9 e TIMP-2 não são bons indicadores prognósticos para sobrevida e mortalidade relacionada à doença. Finalmente, os resultados obtidos sugerem o envolvimento de TIMP-1 na progressão do MCT, corroborando a idéia de um "efeito protetor" desta proteína [29,30,31]. **Conclusão:** O TIMP-1 apresenta expressão significativamente mais elevada em animais com maior sobrevida, o que sugere um papel desta molécula em prevenir a progressão tumoral. No entanto, não foi observada qualquer associação entre o TIMP-1 e graus histopatológicos. A avaliação desta proteína pode representar um fator prognóstico independente para os mastocitomas caninos. É provável que o TIMP-1 possa inibir diretamente a MMP-9 e/ou outras enzimas, assim como antagonizar a angiogênese e/ou iniciar a apoptose de células malignas, o que conduz a um bom resultado nos pacientes com mastocitoma cutâneo. Futuros estudos são necessários para a elucidação de tais questões e, eventualmente, encontrar novos alvos terapêuticos para esta importante neoplasia canina. **Apoio financeiro:** Este estudo teve auxílio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processos 2010/05094-5 e 2013/13252-8).

Referências

- [1] BOSTOCK, D. E. The prognosis following surgical removal of mastocytomas in dogs. **J. Small Anim. Pract.**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 27-41, Jan. 1973.
- [2] PATNAIK, A. K.; EHLER, W. J; MACEWEN, E. G. Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. **Vet. Pathol.**, Basel, v. 21, n. 5, p. 469-474, Sept. 1984.
- [3] SIMÕES, J. P.; SCHONING, P.; BUTINE M. Prognosis of canine mast cell tumors: a comparison of three methods. *Vet. Pathol.*, Basel, v. 31, n. 6, p. 637-647, Nov. 1994.
- [4] STREFEZZI, R. F. et al. Nuclear morphometry in cytopathology: a prognostic indicator for canine cutaneous mast cell tumors. **J. Vet. Diagn. Invest.**, Columbia, v. 21, n. 6, p. 821-825, Nov. 2009.
- [5] KIUPEL, M. et al. Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. **Vet. Pathol.**, Thousand Oaks, v. 48, n. 1, p. 147-155, Jan. 2011.
- [6] CURRAN, S.; MURRAY, G. I. Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. **J. Pathol.**, London, v. 189, n. 3, p. 300-308, Nov. 1999.
- [7] ITOH, Y.; NAGASE, H. Matrix metalloproteinases in cancer. **Essays Biochem.**, London, v. 38, p. 21-36, 2002.
- [8] PAGE-MCCAW, A.; EWALD, A. J.; WERB, Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodeling. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.**, London, v. 8, n. 3, p. 221-233, Mar. 2007.
- [9] DOCHERTY, A. J. et al. The matrix metalloproteinases and their natural inhibitors: prospects for treating degenerative tissue disease. **Trends Biotechnol.**, Amsterdam, v. 10, n. 6, p. 200-207, June 1992.
- [10] VISSE, R.; NAGASE, H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases structure, function, and biochemistry. **Circ. Res.**, Baltimore, v. 92, n. 8, p. 827-839, May 2003.
- [11] BREW, K.; DINAKARPANDIAN; D.; NAGASE, H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. **Biochim. Biophys. Acta**, Amsterdam, v. 1477, n. 1-2, p. 267-283, Mar. 2000.
- [12] ARESU, A. et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in canine mammary tumors. **BMC Vet. Res.**, London, v. 7, p. 33-43, July 2011.

- [13] GIANTIN, M. et al. Expression of matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and vascular endothelial growth factor in canine mast cell tumours. **J. Comp. Pathol.**, Liverpool, v. 147, n. 4, p. 419-429, Nov. 2012.
- [14] NAKAICHI, M. et al. Activity of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in canine oronasal tumors. **Res. Vet. Sci.**, Oxford, v. 82, n. 2, p. 271-279, Apr. 2007.
- [15] PAPPARELLA, S. et al. Expression of matrix metalloprotease-2 (MMP-2) and the activator membrane type 1 (MT1-MMP) in canine mammary carcinomas. **J. Comp. Pathol.**, Liverpool, v. 126, n. 4, p. 271-276, May 2002.
- [16] FIELDING, L. P.; HENSON, D. E. Multiple prognostic factors and outcome analysis in patients with cancer. **Cancer**, New York, v. 71, n. 7, p. 2426-2429, Apr. 1993.
- [17] RUNDHAUG, J. E. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. **J. Cell Mol. Med.**, Oxford, v. 9, n. 2, p. 267-285, Apr.-June 2005.
- [18] SHAMAMIAN, P. et al. Activation of progelatinase A (MMP-2) by neutrophilelastase, cathepsin G, and proteinase-3: A role for inflammatory cells in tumor invasion and angiogenesis. **J. Cell. Physiol.**, New York, v. 189, n. 2, p. 197-206, Nov. 2001.
- [19] DEL CASAR, J. M. et al. Comparative analysis andclinical value of the expression of metalloproteases and their inhibitors by intratumor stromal fibroblasts and those at the invasive front of breast carcinomas. **Breast Cancer Res. Treat.**, The Hague, Boston, v. 116, n. 1, p. 39-52, July 2009.
- [20] VIZOSO, E. J. et al. Study of matrix metalloproteinases and their inhibitors in breast cancer. **Br. J. Cancer, London**, v. 96, n. 6, p. 903-11, Mar. 2007.
- [21] BERGAMASCHI, A. et al. Extracellular matrix signature identifies breast cancer subgroups with different clinical outcome. **J. Pathol.**, London, v. 214, n. 3, p. 357-367, Feb. 2008.
- [22] ZHANG, B. et al. Tumor- derived matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) correlates with poor prognoses of invasive breast cancer. **BMC Cancer**, London, v. 8, p. 83, Mar. 2008.
- [23] ROWE, R. G.; WEISS, S. J. Navigating ECM barriers at the invasive front: the cancer cell-stroma interface. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, Palo Alto, CA, v. 25, p. 567-595, 2009.
- [24] KESSENBROCK, K.; PLAKS, V.; WERB, Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*, Cambridge, v. 141, n. 1, p. 52-67, Apr. 2010.
- [25] TSUCHIYA, Y. et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase 1 is a negative regulator of the metastatic ability of a human gastric cancer cell line, KKLS, in the chick embryo. **Cancer Res.**, Chicago, v. 53, n. 6, p.1397-1402, Mar. 1993.
- [26] HILSKA, M. et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinases-1, -2, -7 and -13 and tissue inhibitors of metalloproteinases-1, -2, -3 and -4 in colorectal cancer. **Int. J.Cancer**, New York, v. 121, n. 4, p. 714-723, Aug. 2007.
- [27] MARTIN, D. C. et al. Inhibition of SV40 T antigen-induced hepatocellular carcinoma in TIMP-1 transgenic mice. **Oncogene**, Basingstoke, v. 13, n. 3, p. 569-76, Aug. 1996.
- [28] KHOKHA, R. Suppression of the tumorigenic and metastatic abilities of murine B16-F10 melanoma cells in vivo by the overexpression of the tissue inhibitor of the metalloproteinases-1. **J. Natl. Cancer Inst.**, Bethesda, MD, v. 86, n. 4, p. 299-304, Feb. 1994.
- [29] IKENAKA, Y. et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) inhibits tumor growth and angiogenesis in the TIMP-1 transgenic mouse model. **Int. J. Cancer**, New York, v. 105, n. 3, p. 340-346, June 2003.
- [30] KHOKHA, R. et al. Suppression of invasion by inducible expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in B16-F10 melanoma cells. **J. Natl. Cancer Inst.**, Bethesda, MD, v. 84, n. 13, p.1017-1022, July 1992.
- [31] HILSKA, M. et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinases-1,-2,-7 and-13 and tissue inhibitors of metalloproteinases-1,-2,-3 and-4 in colorectal cancer. **Int. J. Cancer**, New York, v. 121, n. 4, p. 714-723, Aug. 2007.

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO VÍRUS DA RAIVA ISOLADOS DE CANÍDEOS PROCEDENTES DA REGIÃO NORTE E NORDESTE DO BRASIL

SOUZA, DÉBORA NUNES DE¹; OLIVEIRA, RAFAEL DE NOVAES ²; MACEDO, CARLA ISABEL²; RUTHNER, HELENA BEATRIZ DE CARVALHO ²; PEREIRA, PATRICIA MARIANO DA CRUZ ², FERNANDES, MARCÉLIA EMANUELE SAD ³, SOUZA, TATIANE DE CÁSSIA PARDO DE ²; CARNIELI JÚNIOR, PEDRO ²; CASTILHO, JULIANA GALERA ²

1. Programa de Pós-graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD), São Paulo, SP, Brasil

2. Instituto Pasteur, São Paulo, SP, Brasil

3. Universidade Federal do ABC, Santo André, SP, Brasil

Introdução e Objetivos: A raiva ainda é um grave problema de saúde pública e mesmo com o aumento da eficiência das vacinas e medidas profiláticas estima-se que aproximadamente 70 mil pessoas morram

anualmente por esta doença[1]. O cão (*Canis familiaris*) é considerado um dos principais reservatórios do vírus da raiva (RABV), pois é responsável por 95% dos casos de raiva humana relatados mundialmente [1]. No Brasil os casos de raiva humana se concentram nas regiões Norte e Nordeste, onde as campanhas anuais de vacinação de animais domésticos não atingem as metas previstas. Como conseqüência no período de 2006 a 2012, aproximadamente 92% dos casos de raiva canina ocorreram nestas regiões. [2, 3].

A incidência de raiva em canídeos silvestres, principalmente da espécie *Cerdocyon thous* na região Nordeste, também tem gerado a ocorrência de casos de raiva humana [4]. Além disso, têm sido demonstrada a possibilidade da transmissão da infecção do RABV entre canídeos domésticos e silvestres, fato que possibilitaria a reintrodução da raiva em áreas urbanas nas quais a doença está controlada [5, 6].

O presente trabalho foi delineado para realizar a caracterização molecular do RABV de isolados obtidos de canídeos domésticos e silvestres, identificando as linhagens do RABV circulantes nessas regiões no período de 2006 a 2012 e comparando com as linhagens já caracterizadas anteriormente no período de 2002 a 2005 visando um estudo de epidemiologia molecular para um controle mais eficaz da doença. **Materiais e Métodos:** Foram utilizadas 102 amostras de Sistema Nervoso Central de camundongos previamente inoculados com o RABV provenientes de cães (n=57) e canídeos silvestres (n=45) coletadas no período de 2006 a 2012, de diversos estados das regiões Norte e Nordeste do Brasil. A caracterização molecular foi realizada com o emprego da técnica de transcrição reversa seguida da reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR), primers 21G e 304, para a amplificação do segmento do gene da nucleoproteína [6], sequenciamento do DNA e análise filogenética. Para a construção da árvore filogenética as sequências de DNA foram alinhadas com outras 67 sequências homólogas recuperadas do GenBank pelo método de alinhamento múltiplo CLUSTAL/W utilizando o programa Bioedit 7.0.0. A reconstrução filogenética dos isolados do RABV foi realizada pelo método de distância com o algoritmo *Neighbor-joining* e o modelo evolutivo Kimura-2-parâmetros e com 1000 repetições de bootstrap com o programa Mega 6.

Resultados e Discussões: A topologia da árvore filogenética do gene N gerada com sequências genéticas com 1.367 nucleotídeos (nt), identificou subpopulações do RABV (Clusters, Subclusters e Grupos Filogenéticos), além de 13 casos de infecção interespecífica entre canídeos domésticos e silvestres e um caso de canídeo doméstico infectado com linhagem do RABV de morcego hematofago *Desmodus rotundus* (Figura 1). Dois grandes clusters evidenciados na árvore filogenética são: um de isolados de RABV circulantes entre canídeos e outro de isolados de RABV circulantes entre D. rotundus. No cluster de canídeos foram gerados dois subclusters: um de isolado de RABV circulantes entre canídeos domésticos e outro entre canídeos silvestres. Além disso, nota-se que cada subcluster apresenta a formação de grupos filogenéticos. O subcluster de RABV circulante entre canídeos silvestre foi dividido em oito agrupamentos (Grupos 1 a 8) enquanto que o subcluster de RABV circulantes entre canídeos domésticos gerou cinco agrupamentos (Grupos 9 a 13) (Figuras 1 e 2). O resultado acima descrito utilizou sequências do RABV obtidas durante o período de 2002 a 2012, nas regiões Norte e Nordeste, exceto o grupo 9 que possui isolados da região Sudeste e Centro-oeste no período de 1987 a 1999 (Figura 1).

Os resultados obtidos mostraram a existência de uma clara divisão na árvore filogenética entre os isolados de canídeos e morcegos e, ainda, o cluster dos canídeos evidenciou a formação de dois subclusters, um de canídeos domésticos e outro de canídeos silvestres como descrito em outros estudos [5, 6, 7].

A análise dos agrupamentos formados em cada subcluster de canídeos permite a formação de 13 grupos filogenéticos, enquanto que Carnieli et al

2008 constataram a formação de nove grupos. O aumento do número de grupos filogenéticos formados ocorreu provavelmente pelo aumento do número de isolados de RABV, uma maior área geográfica abrangida e um maior intervalo de tempo. Assim como relatado por Carnieli et al 2008 [5], os isolados foram agrupados de acordo com a regionalidade. A formação desses grupos demonstra a diversidade de sublinhagens do RABV que circulam na região Norte e Nordeste. Um fato que poderia ter gerado a formação de novas populações virais seria o isolamento geográfico entre as diferentes populações de um mesmo reservatório e que ocorre principalmente em espécies que exploram diferentes nichos ecológicos como, por exemplo, os canídeos. A emergência da raiva nestas populações pode ocasionar mudanças genéticas do vírus original no processo de adaptação e estabelecimento nestes hospedeiros [8]. No presente trabalho foi registrada a ocorrência de transmissão da infecção do RABV entre canídeos domésticos e silvestres mostrando que a proximidade interespecífica, poderia resultar na reintrodução do RABV em canídeos domésticos. A, necessidade do estabelecimento de uma maior vigilância epidemiológica entre os canídeos silvestres, têm sido ressaltada, pois com o desmatamento e o aumento da urbanização os canídeos silvestres estão cada vez mais próximos dos humanos[4, 5 e 6].

Uma alternativa para diminuir a raiva em canídeos silvestres, seria desenvolver um método para realizar a vacinação oral nesses animais. Um exemplo deste tipo de vacinação oral para animais silvestres ocorre na Europa desde 1978 e, atualmente, a raiva está praticamente erradicada no Oeste Europeu e nos países da Europa Central [9, 10]. Portanto, a vacinação oral em canídeos silvestres, aliada a educação em saúde com relação a raiva e a constância na realização de investigações de epidemiologia molecular são essenciais para evitar o surgimento de surtos do RABV e conseqüentemente a reintrodução da zoonose em regiões em que havia sido controlada.

Conclusões: A árvore filogenética obtida com o sequenciamento parcial do gene N mostrou a presença de duas linhagens distintas do RABV (canídeos e morcegos) circulando na região Norte e Nordeste. Ainda, dentro do cluster dos isolados de canídeos foram evidenciadas duas sublinhagens distintas circulando entre canídeos domésticos e silvestres. Além disso, dentro dos isolados de canídeos a foi constatada a presença de 13 grupos filogenéticos relacionados à região geográfica e 14 casos de infecções interespecíficas.

Fica demonstrado que a epidemiologia molecular realizada de uma forma constante possibilita a compreensão da circulação do RABV, nas diferentes regiões geográficas e que possibilita o aprimoramento das medidas de controle e prevenção da doença.

Apoio financeiro: O presente estudo teve auxílio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e do Instituto Pasteur.

Referências

- [1] OIE. WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. Rabies Portal. 2014. Disponível em: <<http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/rabies-portal/>>. Acesso em: 26 ago. 2015.
- [2] WADA, M. S.; ROCHA, A.; MAIA-ELKHOURY, A. N. S. Situação da Raiva no Brasil de 2000 a 2009. *Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília, v. 20, n. 4, p. 509-518, out.-dez. 2011.
- [3] BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Brasília, 2014. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/saude>>. Acesso em: 26 ago. 2015.
- [4] KOTAIT, I. et al. Reservatórios silvestres do vírus da raiva: um desafio para a saúde pública. *BEPA*, São Paulo, v. 4, n. 40, p. 4-10, abr. 2007.
- [5] CARNIELI, P. et al. Characterization of Rabies virus isolated from canids and identification of the main wild canid host in Northeastern Brazil. *Virus Res.*, Amsterdam, v. 131, n. 1, p. 33-46, Jan. 2008.

[6] KOBAYASHI, Y. et al. Phylogenetic characterization of rabies virus isolates from Carni in Brazil. *J. Vet. Med. Sci.*, Tokyo, v. 69, n. 7, p. 691-696, July 2007.

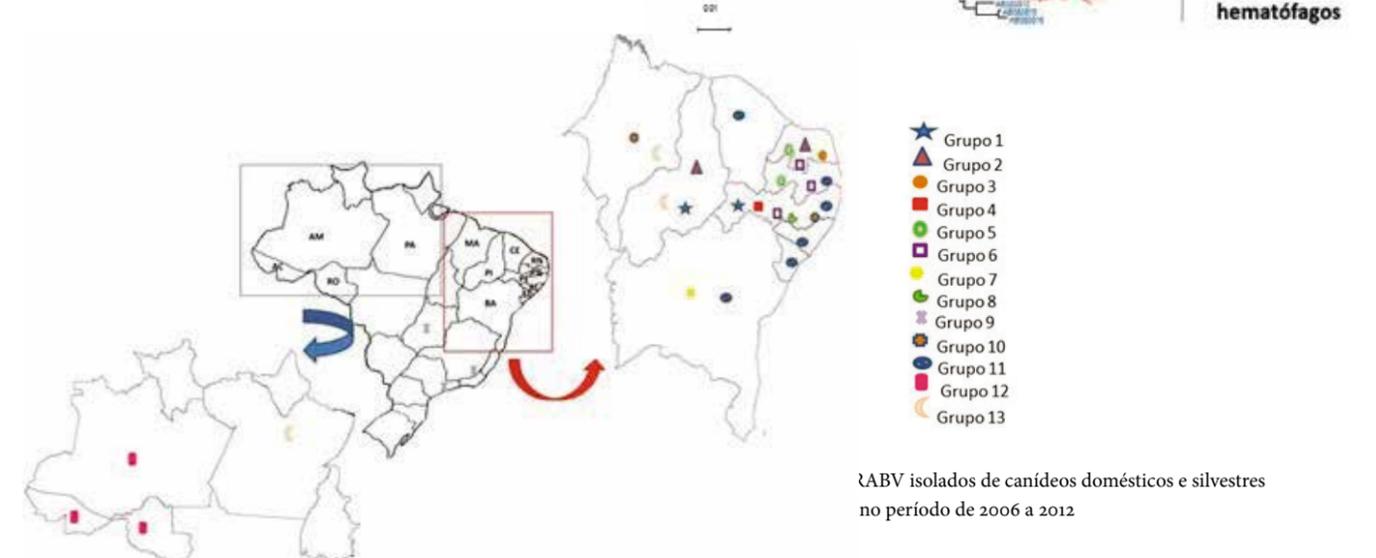
[7] ITO, M. et al. Genetic characterization and geographic distribution of rabies virus isol in Brazil: identification of two reservoirs, dogs and vampire bats. *Virology*, New York, v. 28 2, p. 214-222, June, 2001.

[8] RUPPRECHT, C. E.; HANLON, C. A.; HEMACHUDA, T. Rabies re-examined. *Lai Infect. Dis.*, New York, v. 2, n. 6, p. 327-343, June 2002.

[9] STAHL, J. P. et al. Update on human rabies in a dog and fox-rabies-free country. *Méd. Infect.*, Paris, v. 44, n. 7, p. 292-301, July 2014.

[10] WHO. Rabies Boletim Europe. Disponível em: <<http://www.rbe.fli.bund.de>>. Acesso 17 ago. 2015.

Figura 1 - Árvore filogenética do gene N do RABV com 153 isolados de c domésticos, canídeos silvestres, morcegos hematofagos e amostra fixa uti o método de Distância *Neighbor-joining* (NJ). Nessa figura, nota-se a fo de dois grandes grupos; um grande grupo dos canídeos brasileiros qu divididos em dois grandes subgrupos: canídeos domésticos e canídeos si com 13 agrupamentos. Os valores em cada nó da árvore filogenética repre os resultados de 1000 repetições de *bootstrap*. Em vermelho estão destacad os isolados do presente trabalho e em azul e em preto todos os isolados obt GenBank. As setas vermelhas representam as infecções interespecíficas.



ESTUDO ANATOMO-PATOLÓGICO E SEXAGEM MORFOMÉTRICA DE PINGUINS-DE-MAGALHÃES (*SPHENISCUS MAGELLANICUS*) JUVENIS DE VIDA LIVRE ENCONTRADOS NO LITORAL DE SÃO PAULO ENTRE MAIO E JULHO DE 2015

EWBANK, ANA CAROLINA¹; RUOPPOLO, VALERIA^{1,2}; SACRISTÁN, CARLOS¹; EBERT, MARIANA BERTHOLD³; STREFEZZI, RICARDO DE FRANCISCO⁴; VANSTREELS, RALPH ERIC THIJL¹; CATÃO-DIAS, JOSÉ LUIZ¹

1. Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil, CEP 05508-270.
2. Aiuká Consultoria em Soluções Ambientais, Rua Bahia 362, Forte Praia Grande, SP, Brasil, CEP 11700-280
3. Laboratório de Parasitologia de Animais Silvestres, Departamento de Parasitologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil, CEP 18618-970, Caixa Postal 510.
4. Departamento de Zootecnia, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, Brazil, CEP 13635-900.

Email: carolewbank@usp.br

Introdução e Objetivos: Pinguins são considerados sentinelas do ambiente marinho, servindo como indicadores precoces de impactos ambientais e desequilíbrios ecológicos [1]. Dentre eles, o pinguim-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*), habitante da costa da Argentina, Chile e das Ilhas Falkland/Malvinas, visita a plataforma continental brasileira durante seu deslocamento invernal [2, 3], atingindo as regiões sul e sudeste do Brasil, de março a setembro [1,4]. Em sua grande maioria são juvenis inexperientes e debilitados, frequentemente afetados por atividades antrópicas, tais como: interação com a atividade pesqueira, poluição, ingestão de material sintético flutuante e petrolização [2,4,5]. Variações e anomalias nas correntes oceânicas, especialmente o fenômeno El Niño, também podem influenciar o evento [6]. A sexagem de pinguins por meio da análise discriminante de parâmetros morfométricos oferece resultados relativamente confiáveis, sendo uma técnica simples, rápida, de baixo custo e não invasiva [7, 8]. A utilização desta técnica, associada a exames post mortem, permite um melhor entendimento dos padrões migratórios, biologia e desafios encontrados por esses animais durante período de permanência na costa brasileira. O objetivo do presente estudo foi avaliar a morfometria e reportar os achados anatomo-patológicos encontrados em pinguins-de-Magalhães enalhados na costa sudeste brasileira entre maio e julho de 2015. **Material e Métodos:** Foram avaliados macroscopicamente 50 cadáveres de pinguins-de-Magalhães juvenis encontrados no litoral de Praia Grande/SP entre 1º de Maio e 31 de Julho de 2015: 20 chegaram mortos à praia; 24 morreram durante a permanência em centro de reabilitação; e seis morreram por afogamento após a captura por redes de pesca. Dentre os animais submetidos à necropsia, oito (16%) foram considerados aptos quanto ao estado de conservação para avaliação histopatológica. Nestes casos, fragmentos de órgãos selecionados foram fixados em solução de formaldeído à 10% e processados de acordo com as técnicas rotineiras de histopatologia. Os parâmetros morfométricos avaliados foram: altura (BD), comprimento (BL) e largura (BW) do bico; largura da comissura bucal (CW); comprimento total da nadadeira (TFL) e do cotovelo à sua extremidade (EFL); comprimento do dedo médio (MTL), tarso (TL) e pata (PML); circunferência de cabeça (HC) e axilar (AC); comprimento do corpo à cabeça (HBL) e total (TBL); e massa corpórea. **Resultados e Discussão:** Os exames necroscópicos revelaram lesões macroscópicas em sistemas cardíaco (12%, 6/50), respiratório (12%, 6/50), hepático (6%, 3/50), linfóide (6%, 3/50), gastrointestinal (2%, 1/50), neurológico (2%, 1/50) e outros (2%, 1/50). Os resultados histopatológicos parciais e preliminares são listados na tabela 1. Corpos estranhos foram encontrados

no conteúdo gástrico de 24% (12/50) dos animais e incluíam, dentre outros, fragmentos inorgânicos (restos de embalagens e sacolas plásticas, fios de arame, borracha e cordas) e orgânicos (sementes, fragmentos de madeira e algas). O nematódeo anisacuídeo *Contraecaecum pelagicum*, previamente registrado em pinguins-de-Magalhães [9,10], foi identificado morfológicamente no trato gastrointestinal de 10% (5/50) dos animais avaliados. A sexagem necroscópica identificou 41 fêmeas e nove machos, uma razão sexual significativamente desbalanceada (Teste de uma proporção; $P < 0.001$). Diferenças nos parâmetros morfométricos foram observadas entre os sexos (Teste de Mann-Whitney), sendo mais altos nos machos: altura do bico (BD) ($P < 0.001$), largura da comissura bucal (CW) ($P = 0.023$), comprimento do cotovelo à extremidade da nadadeira (EFL) ($P = 0.006$), comprimento total da nadadeira (TFL) ($P = 0.014$), circunferência de cabeça (HC) ($P = 0.002$) e massa corpórea ($P = 0.021$). Funções discriminantes de sexagem descritas na literatura para pinguins-de-Magalhães apresentaram acurácia reduzida, entre 80% e 86%, sem ter apresentado um viés sistemático para qualquer um dos sexos. O melhor desempenho foi obtido pela função discriminante JUV-A [$D = (0.984 \times BD) - 18.644$] [7]. Devido ao insuficiente tamanho amostral de machos, não foi proposta uma nova função discriminante. **Conclusões:** Apesar de ser a espécie de ave mais comumente enalhada ao longo do litoral brasileiro, ainda há poucos registros do número de pinguins-de-Magalhães que morrem a cada ano na costa brasileira, seu status físico no momento do enalhe e fatores causadores de tal fenômeno. Os resultados do presente trabalho confirmam estudos anteriores que apontam uma maior mortalidade de fêmeas juvenis no litoral brasileiro. O trabalho conjunto com centros de reabilitação e a realização de exames post mortem é de extrema importância para a conservação do pinguim-de-Magalhães, bem como para um melhor entendimento da sua ecologia, dinâmica populacional e sobrevivência durante o período em que se encontra na plataforma continental brasileira. **Apoio financeiro:** FAPESP (processo 2010/51801-5), CAPES.

Referências

- [1] BOERSMA, P. D. Penguins as Marine Sentinels. *BioScience*, Oxford, v. 58, n. 7, p. 597-607, July/Aug. 2008.
- [2] SILVA-FILHO, R. P.; RUOPPOLO, V. Sphenisciformes (Pinguim). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Ed.). *Tratado de animais selvagens: medicina veterinária*. 2. ed. São Paulo: Roca, 2015. p. 364-416.
- [3] REIS, E. C. et al. Molecular sexing of unusually large numbers of *Spheniscus magellanicus* (Spheniscidae) washed ashore along the Brazilian coast in 2008. *Genet. Mol. Res.*, Ribeirão Preto, v. 10, n. 4, p. 3731-3737, Dec. 2011.
- [4] MÁDER, A.; MARTIN SANDER, M.; CASA Jr., G. Ciclo sazonal de mortalidade do pinguim-de-magalhães, *Spheniscus magellanicus* influenciado por fatores antrópicos e climáticos na costa do Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev. Bras. Ornitol.*, v.18, n. 3, p. 228-233, set. 2010.
- [5] TRATHAN, P. N. et al. Pollution, habitat loss, fishing and climate change as critical threats to penguins. *Conserv. Biol.*, Boston, Mass., v. 29, n. 1, p. 31-41, Feb. 2014.
- [6] DANTAS, G. P. M. et al. Evidence for Northward extension of the winter range of Magellanic penguins along the Brazilian Coast. *Marine Ornithol.*, v. 41, n. 2, 195-197, 2013.
- [7] VANSTREELS, R. E. T. et al. Gender determination from morphometrics in migrating Magellanic Penguins (*Spheniscus magellanicus*). *Marine Ornithol.*, v. 39, n. 2, p. 215-220, 2011.
- [8] ZALAVAGA, C. B.; PAREDES, R. Sex determination of adult Humboldt penguins using morphometric characters (Determinación del sexo en adultos de *Spheniscus humboldti* utilizando características morfométricas). *J. Field Ornithol.*, v. 68, n. 1, p. 102-112, 1997.
- [9] CAMPOS, S. D. E. et al. *Contraecaecum pelagicum* and *C. plagiaticum* (Nematoda: Anisakidae) infection in Magellanic penguins (*Sphenisciformes: Spheniscidae*) on the coast of Rio de Janeiro State. *Pesq. Vet. Bras.*, Rio de Janeiro, v. 33, n. 1, p. 89-93, jan. 2013.
- [10] BORGES, J. N. et al. Molecular and morphological characterization of *Contraecaecum pelagicum* (Nematoda) parasitizing *Spheniscus magellanicus* (Chordata) from Brazilian waters/ Caracterização molecular e morfológica de *Contraecaecum pelagicum* (Nematoda) parasito de *Spheniscus magellanicus* (Chordata) em águas brasileiras. *Braz. J. Vet. Parasitol.*, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 74-79, jan./mar. 2014.

Tabela 1 - Achados histopatológicos parciais encontrados em pinguins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) juvenis de vida livre encontrados no litoral de São Paulo, Brasil entre maio a julho de 2015

Grupo	Alterações histopatológicas
Animais encontrados mortos na praia (n=3)	Congestão cardíaca moderada (1/3) Pneumonia granulocítica difusa moderada (1/3) Congestão pulmonar moderada a severa (2/3) com áreas multifocais de hemorragia (1/3)
	Edema pulmonar moderado (1/3)
	Traqueíte difusa discreta a moderada predominantemente linfoplasmocitária com raros granulócitos (1/3)
	Congestão hepática moderada (1/3)
	Hemossiderose hepática moderada a severa (1/3)
	Hepatite perivascular discreta a moderada (1/3)
	Congestão renal discreta a moderada (1/3)
	Hiperplasia esplênica linfóide moderada à severa com marcante perda da estrutura trabecular original (1/3)
	Congestão esplênica moderada à severa (1/3)
	Hemossiderose esplênica moderada à severa (1/3)
Animais afogados (n=4)	Esplenite difusa aguda moderada (1/3)
	Linfocitólise esplênica discreta à moderada (1/3)
	Congestão cardíaca difusa moderada (3/4)
	Congestão pulmonar moderada a severa (3/4)
Animais que vieram á óbito durante a reabilitação (n=1)	Edema pulmonar moderado a severo (2/4)
	Pneumonia granulocítica difusa discreta a moderada (2/4)
	Congestão pulmonar difusa moderada a severa (1/1)
	Hemorragia pulmonar multifocal coalescente moderada com presença de colônias bacterianas intravasculares e/ou em espaços aéreos (1/1)
	Edema pulmonar com presença de fibrinas em espaços aéreos (1/1)
	Hemossiderose hepática moderada a severa (1/1)
Animais que vieram á óbito durante a reabilitação (n=1)	Hematopoiese hepática extracelular (1/1)
	Hepatite perivascular mononuclear multifocal discreta a moderada (1/1)
	Congestão hepática moderada a difusa (1/1)
	Esplenite embólica bacteriana multifocal coalescente necrótica com depressão linfóide e hiperplasia linfóide (1/1)

Figuras:

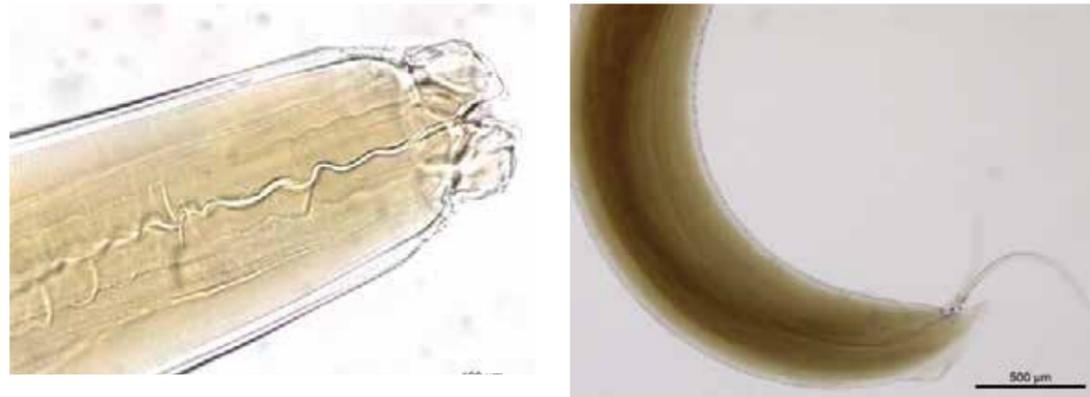


Figura 1 - Porção anterior (esquerda) e espículo posterior (direita) do anasídeo *Contraecum pellagicum* encontrado em trato gastrointestinal de pinguins-de-Magalhães capturados no litoral brasileiro no período de maio a julho de 2015



Figura 2 - Pinguim-de-Magalhães encontrados no litoral brasileiro entre maio a julho de 2015. Observar a presença de líquido translúcido amarelado (hemopericárdio) e inflamação do saco pericárdico (pericardite). Discreta hepatomegalia. Vesícula biliar repleta de conteúdo



Figura 3: Pinguim-de-Magalhães encontrados no litoral brasileiro entre maio a julho de 2015 -Baço de tamanho normal (esverdeado devido à impregnação por bile; esquerda); esplenomegalia severa e congestão esplênica (direita)

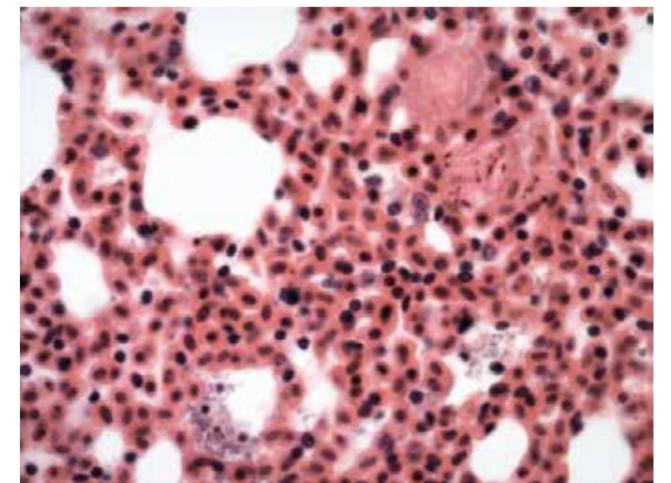


Figura 4. Pinguim-de-Magalhães encontrados no litoral brasileiro entre maio a julho de 2015-Pneumonia granulocítica com presença de fibrina e colônias bacteriana em espaços aéreos.

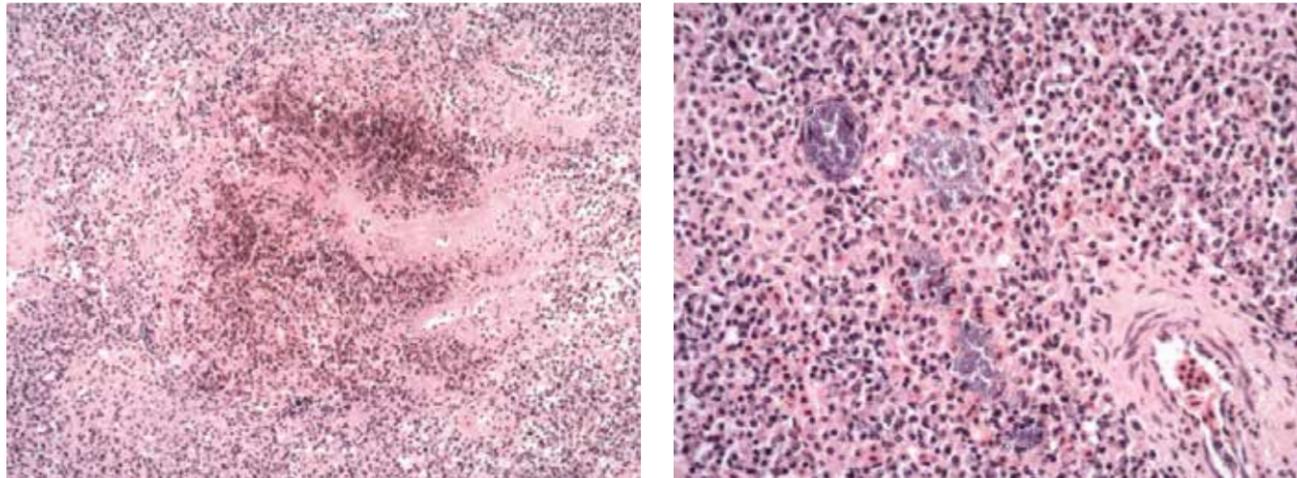


Figura 5. Pinguim-de-Magalhães encontrados no litoral brasileiro entre maio a julho de 2015. Esplenite multifocal coalescente necrótica com depressão linfóide e hiperplasia linfóide.



Figura 6. Pinguim-de-Magalhães encontrados no litoral brasileiro entre maio a julho de 2015. Corpos estranhos encontrados no conteúdo gástrico dos animais: fragmentos orgânicos (sementes, fragmentos de madeira e algas) e inorgânicos (restos de embalagens e sacolas plásticas, fios de arame, borracha e cordas).

APRESENTAÇÃO ORAL - CATEGORIA DOUTORADO EFEITOS CRÔNICOS DO USO DE SEMENTES DE *SENNA OCCIDENTALIS* SOBRE O TECIDO HEMATOPOIÉTICO DE RATOS

TELES, AVFF1; FOCK, RA2; GÓRNIAC SL1

1Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo, Brasil

2Departamento de Química Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, Brasil

Introdução: *S. occidentalis* é uma planta leguminosa nativa da América do Sul, mas também pode ser encontrada em outras regiões tropicais e subtropicais do mundo (Tokarnia et al., 2000), como por exemplo, na Europa, Austrália, sul e leste dos Estados Unidos, África Oriental e Índia. Todas as partes da planta são tóxicas, mas a maior toxicidade da planta é encontrada nas suas sementes. Apesar da toxicidade, a *S. occidentalis* é amplamente utilizada para fins terapêuticos em seres humanos. Embora alguns defendam que a utilização de *S. occidentalis* é segura para os seres humanos (Bin-Hafeez et al., 2001), a perda de fluidos, hipocalemia e diarreia estão bem documentadas com o uso desta planta (Spiller et al., 2003). Outros efeitos secundários observados em seres humanos incluem a hepatite e as reações alérgicas associadas com o uso excessivo de sementes de *S. occidentalis* (Beuers et al, 1991; Marks et al., 1991; Helin e Makinen-Kiljunen, 1996; Spiller et al, 2003; Seybold et al., 2004; Vanderperren et al, 2005). Dor abdominal, atividade intestinal excessiva e assaduras também foram relatadas (Spiller et al., 2003). Além disso, estudos toxicológicos revelaram alguns efeitos prejudiciais potentes a partir do uso de sementes de *S. occidentalis* em diferentes espécies animais, tais como miototoxicidade (Haraguchi et al., 1998; Furlan et al., 2014), hepatotoxicidade (Tasaka et al., 2000; Soyuncu et al., 2008) e neurotoxicidade (Barbosa-Ferreira et al., 2005). Embora a toxicidade da *S. occidentalis* tenha sido bem descrita em vários tecidos, não há relatos de seu efeito sobre o sistema hematopoiético. O tecido hematopoiético apresenta alta capacidade proliferativa e, por conseguinte, pode ser alvo de ação tóxica de várias substâncias, incluindo a *S. occidentalis*. **Objetivo:** Investigar, pela primeira vez, os efeitos da administração crônica de sementes *S. occidentalis* em órgãos hematopoiéticos de ratos, incluindo a medula óssea e baço. **Métodos:** Cinquenta ratos Wistar machos foram divididos em cinco grupos de 10 animais: controle negativo, os quais receberam apenas ração comercial; três grupos experimentais, tratados, respectivamente, com 0,5% (So0.5), 1% (So1) e 2% (So2) de sementes de *S. occidentalis* na ração por 90 dias. Além destes grupos, também foi incluído o grupo Pair-fed (PF), em que os animais receberam a mesma quantidade de ração consumida pelos animais tratados com 2% de *S. occidentalis*, porém, isentas de sementes da planta. Para tanto, iniciou-se a administração ao grupo So2 vinte e quatro horas antes do grupo PF. Este procedimento permitiu o cálculo da média da quantidade de ração consumida pelos animais do grupo experimental So2; a quantidade obtida por intermédio deste cálculo foi administrada aos animais do grupo PF. Foram utilizadas sementes de *S. occidentalis* do Instituto Biológico de São Paulo. Após a coleta, as sementes foram alojadas em local seco até o momento de serem moídas e adicionadas à ração. Devido à possibilidade de inativação dos princípios ativos pelo aquecimento e, conseqüentemente, perda da toxicidade das sementes quando da trituração em moinhos de facas, foi realizado o procedimento a frio. Assim, as sementes de *S. occidentalis* foram separadas dos cotilédones, congeladas em nitrogênio líquido, trituradas em liquidificador comercial e incorporadas à ração. Foram adicionadas diferentes concentrações de sementes (0,5%, 1% e 2%) a ração, sendo esta mistura homogeneizada em misturador e, imediatamente, peletizada. Os ratos receberam, pela via oral, veiculadas na ração, diferentes concentrações de *S. occidentalis* e foram observados por 90

dias para detecção de possíveis alterações físicas e ocorrência de morte. O grupo controle recebeu água e ração pela mesma via e período. Ao término de 90 dias de administração das sementes de *S.occidentalis*, todos os animais foram profundamente anestesiados com uma solução de cetamina (50mg/kg) e xilazina (5mg/kg) por injeção intraperitoneal. Após a anestesia e eutanásia, a medula óssea e baço foram coletados para a determinação da celularidade. As células da medula óssea foram obtidas da cavidade femoral dos animais, após a lavagem da mesma com 5 mL de solução gelada de meio RPMI. E, os esplenócitos foram obtidos a partir de um fragmento do baço de peso conhecido. A viabilidade e contagem global das células nucleadas foram realizadas em hemocitômetro, utilizando o corante Tripán Blue diluído 6x em PBS. A partir das amostras de suspensão total de células da medula óssea obtidas conforme descrito anteriormente, foram preparadas lâminas de citocentrifugado e coradas pelo método May-Grünwald-Giemsa modificado para avaliação do mielograma. A classificação das células da linhagem granulocítica foi baseada na relação núcleo-citoplasma; na afinidade tintorial do citoplasma; na presença ou não de grânulos primária ou secundária no citoplasma; no padrão de cromatina nuclear; na presença ou não de nucléolos; no diâmetro e segmentação ou não do nucléolo. Na série granulocítica, foram considerada quatro etapas maturativas: (I) blastos, envolvendo o hemocitoblasto e o mieloblasto; (II) formas jovens, englobando o promielócito e o mielócito; (III) formas em anel, correspondentes ao metamielócito e ao bastonete; (IV) segmentados, envolvendo as formas segmentadas a partir de 2 lóbulos nucleares. Os precursores eritróides foram classificados em: (I) eritroblastos jovens, envolvendo os proeritroblastos e eritroblastos basófilos; (II) eritroblastos policromáticos, englobando todas as etapas em que as células apresentaram cromatina condensada e citoplasma policromático; (III) eritroblastos ortocromáticos, incluindo células com núcleo de cromatina picnótica e citoplasma eosinofílico. As células da linhagem linfocitária, envolvendo prolinfócitos, linfócitos típicos ou atípicos foram agrupadas como linfócitos. Os promonócitos, monócitos e macrófagos foram reunidos em um grupo de células denominadas monomacrofágicas. Também foram avaliadas as células da linhagem megacariocítica. Após análise do mielograma foi importante estabelecer a razão Mielóide/Eritróide (M/E). Esta razão foi obtida por meio do cálculo do total de precursores mielóides em proporção ao total de precursores eritróides. Um índice igual a um determina que ambas as populações sejam iguais em números; índices acima indicam uma predominância das células mielóides enquanto que valores inferiores indicam que as células eritróides são mais numerosas. Após a eutanásia dos animais pertencentes aos diferentes tratamentos, foram realizados os procedimentos: hemograma completo; avaliação macroscópica de possíveis lesões e a coleta de órgãos para análise histológica. Dentre estes órgãos, foram coletados o baço e medula óssea para avaliação de possíveis lesões microscópicas a partir de cortes histológicos corados por Hematoxilina-eosina. A avaliação dos estoques de ferro nos órgãos foi realizada com o emprego da Reação de Perls. Todos os resultados obtidos foram analisados com o emprego do programa Graph Pad Prism 5. Os resultados foram, primeiramente, submetidos ao teste de homocedasticidade da amostra e classificados em paramétricos e não paramétricos. Em seguida, foi utilizado o teste One-way Anova seguido do teste de Dunnett para comparação entre os grupos controle, tratados com diferentes concentrações de *S. occidentalis* na ração e grupo PF. O nível de significância adotado foi de 0,05. Os procedimentos experimentais foram realizados em conformidade com a Comissão de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório de Recursos da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Brasil (n° 152 / FMVZ / 2012 - 2692/2012 projeto). **Resultados e Discussão:** A hematotoxicidade pode ser manifestada pela alteração do número de células maduras no sangue ou na medula óssea e, pode ser expressa pela destruição excessiva ou supressão da produção de

células do tecido hematopoiético (SHEN et al, 2005). O presente trabalho mostrou que os ratos submetidos a diferentes concentrações de *S. occidentalis* na ração apresentaram diminuição no número de leucócitos totais bem como alterações nos parâmetros referentes a série vermelha, tais como diminuição do VCM e HCM, caracterizando uma anemia microcítica hipocrômica. Os valores do hemograma corroboram as alterações observadas no mielograma destes animais, uma vez que foi constatada a redução significante da relação M/E e, portanto, um possível efeito tóxico da *S. occidentalis* sobre a medula óssea durante o tratamento crônico de 90 dias. A redução significativa da relação M/E nos animais pertencentes aos diferentes grupos experimentais ocorreu devido ao aumento progressivo de eritroblastos jovens e policromáticos na medula óssea. Índices baixos da relação M/E podem estar associados a uma anemia regenerativa em função de hemólise extravascular ou, ainda, à eritropoiese ineficaz. A partir do mielograma foi observada a redução significativa de células blásticas e de todos os tipos celulares, especialmente, da linhagem granulocítica, com predomínio da linhagem linfocitária. No entanto, uma vez que os linfócitos estão, continuamente, recirculando, o seu aumento ou diminuição não reflete, necessariamente, alteração na linfopoiese.

A análise diagnóstica da medula óssea compreende, classicamente, a citologia. Mais recentemente, tornou-se rotina o estudo histológico. Desde o início do projeto, estes dados foram integrados, pois, enquanto a citologia fornece uma análise mais detalhada das características das células e permite a sua quantificação, a biópsia, analisar o tecido como um todo e permite o estudo da estrutura do tecido hematopoiético. A análise anatomopatológica da medula óssea de animais dos grupos experimentais indicou a existência de um aumento progressivo da celularidade, caracterizando hiperplasia medular. Estes resultados se correlacionam aos dados do mielograma.

Na anemia regenerativa foi observada diminuição da sobrevida das hemácias na circulação, resultante de hemólise extravascular realizada por macrófagos, especialmente, do tecido esplênico. Assim, o tratamento crônico com *S. occidentalis* poderia estar associado ao processo hemolítico, haja vista a observação de aumento de hemossiderina no baço de animais tratados com esta planta. O tratamento crônico com *S. occidentalis* também promoveu a redução significante na celularidade do baço bem como alterações anatomopatológicas, incluindo espessamento de cápsula e rarefação celular.

Na avaliação dos estoques de ferro medular efetuada com a Reação de Perls foi constada uma redução no score de ferro dos animais tratados com diferentes concentrações de *S. occidentalis* na ração quando comparados aos respectivos controles. A redução observada de grânulos de ferro na medula óssea poderia estar associada a um distúrbio de reutilização deste mineral. Estes dados confirmam os resultados obtidos na análise morfométrica do baço destes animais, haja vista a constatação de um aumento de depósito de ferro, na forma de pigmentos de hemossiderina, em amostras esplênicas dos ratos tratados com *S. occidentalis* na ração por 90 dias. **Conclusão:** A administração a longo prazo de sementes de *S. occidentalis* pode promover hematotoxicidade.

Palavras-chave: *Senna occidentalis*; hematotoxicidade; medula óssea; hiperplasia eritróide, ratos.

Referências

- TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000.
- BIN-HAFEEZ, B. et al. Protective effect of *Cassia occidentalis* L. on cyclophosphamide-induced suppression of humoral immunity in mice. **J. Ethnopharmacol.**, Lausanne, v. 75, n. 1, p. 13-18, Apr. 2001.
- SPILLER, H. A. et al. Skin breakdown and blisters from senna-containing laxatives in young children. **Ann. Pharmacother.**, v. 37, n. 5, p. 636-39, May 2003.
- BEUERS U.; SPENGLER, U.; PAPE, G. R. Hepatitis after chronic abuse of senna. **Lancet**, London, v. 337, n. 8737, 372-373, Feb. 1991.
- MARKS, G. B.; SALOME, C. M.; WOOLCOCK, A. J. Asthma and allergy associated with occupational exposure to ispaghula and senna products in a pharmaceutical work force. **Am. Rev. Respir. Dis.**, Baltimore, v. 144, n. 5, p. 1065-1069, Nov. 1991.

- HELIN, T.; MAKINEN-KILJUNEN, S. Occupational asthma and rhino conjunctivitis caused by senna. **Allergy**, v. 51, n. 3, p. 181-184, Mar. 1996.
- SEYBOLD, U. et al. Senna- induced hepatitis in a poor metabolizer. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 141, n. 8, p. 650-651, Oct. 2004.
- VANDERPERREN, B. et al. Acute liver failure with renal impairment related to the abuse of senna anthraquinone glycosides. **Ann. Pharmacother.**, Cincinnati, v. 39, n. 7-8, p. 1353-57, July-Aug. 2005.
- HARAGUCHI, M. et al. Muscle atrophy induced in broiler chicks by parts of *Senna occidentalis* seeds. **Vet. Res. Commun.**, Amsterdam, v. 22, n. 4, p. 265-271, June 1998.
- FURLAN, F. H. et al. Toxic myopathy and acute hepatic necrosis in cattle caused by ingestion of *Senna obtusifolia* (sicklepod; coffeesenna) in Brazil. **Toxicon.**, Oxford, v. 92, p. 24-30, Dec. 2014.
- TASAKA, A. C. et al. Toxicity testing of *Senna occidentalis* seed in rabbits. **Vet. Res. Commun.**, Amsterdam, v. 24, n. 8, p. 573-580, Dec. 2000.
- SOYUNCU, S.; CETE, Y.; NOKAY, A. E. Portal vein thrombosis related to *Cassia angustifolia*. **Clin. Toxicol. (Phila)**, Philadelphia, v. 46, n. 8, p. 774-777, Sept. 2008.
- BARBOSA-FERREIRA, M. et al. Sub-acute intoxication by *Senna occidentalis* seeds in rats. **Food Chem. Toxicol.**, Oxford, v. 43, n. 4, p. 497-503, Apr. 2005.
- SHEN, S. G. et al. The distribution patterns of trace elements in the blood and organs in a rabbit experimental model of cooper pollution and study of haematology and biochemistry parameters. **Environ. Toxicol. Pharm.**, v. 19, n. 2, p. 379-384, Feb. 2005.

PROJETO EM ANDAMENTO: AVALIAÇÃO DAS PROTEÍNAS ANTI E PRÓ-APOPTÓTICAS EM CULTURA DE NEURÔNIOS HIPOCAMPAIS EXPOSTOS À COCAÍNA, AEME E ASSOCIAÇÃO: RESULTADOS PRELIMINARES

UDO, MARIANA SAYURI BERTO¹; SILVA, MARIANA AGUILERA ALENCAR¹; DURO, STEPHANIE OLIVEIRA¹; DAL'JOVEM, LEANDRO FERREIRA²; GARCIA, RAPHAEL CAIO TAMBORELI³; MARCOURAKIS, TANIA¹

¹ Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

² Programa de graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdades Oswaldo Cruz, São Paulo, SP, Brasil.

³ Instituto de Ciências do Meio Ambiente, Química e Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo, Diadema, SP, Brasil.

Introdução: A cocaína é uma das substâncias com alto poder de adição utilizada, nos dias de hoje pela sociedade que pode causar desejo, busca e uso compulsivo e abusivo, mesmo diante de consequências negativas [1]. O número de usuários de cocaína na forma de crack vem crescendo e a escolha por essa forma decorre do baixo custo, facilidade de administração e da velocidade e intensidade com que os efeitos aparecem [2]. O uso dessa substância está associado ao prejuízo das habilidades de atenção, memória e funções executivas, dificuldades em tomadas de decisão, abstração e planejamento, possivelmente associadas ao alto índice de recaídas e baixa adesão ao tratamento por parte desses pacientes [3]. É sabido que o hipocampo é uma das principais estruturas envolvidas com os processos de memória e aprendizagem e que os diferentes tipos celulares dessa região são altamente vulneráveis à injúrias, dessa forma, morte celular nessa área cerebral pode comprometer essas habilidades cognitivas [4]. Os usuários de crack estão expostos não somente à cocaína volatilizada, mas também à AEME, principal produto de pirólise da cocaína, assim, Garcia et al. [5], examinando os neurônios hipocampais mostraram que tanto a cocaína, quanto o AEME e a associação de ambas são passíveis de reduzir a viabilidade celular a partir de 12h. Dessa forma, o presente trabalho investigou a via de ativação das mortes celulares nesse tipo de exposição. **Material e Métodos:** Neurônios hipocampais, obtidos de fetos de ratos no 18º dia de gestação, foram cultivados (1,8 x 10⁶ célula/poço) por sete dias à 37°C e 5% de CO₂ em meio neurobasal acrescido de 50µM glutamina + 25µM glutamato + 1% de penicilina:estreptomicina (10.000U : 10.000µg/mL) + 2% de suplemento b27 (Gibco). No sétimo dia de cultivo, as células foram expostas à 2mM de cocaína (Coc), 1mM de AEME (A) ou à associação de ambas por 3 e 6h. Dez mM de glutamato (Glu) foram utilizados como controle

positivo de apoptose e as células controle negativo de morte (Ctrl) foram expostas somente ao meio neurobasal acrescido de penicilina:estreptomicina e glutamina. A expressão das proteínas pró-apoptóticas (caspase-8, -9, -3 e Bax) e anti-apoptótica (Bcl-2) foram avaliadas pelo método de Western blot após a separação de 40µg de proteínas totais, por SDS-PAGE. **Resultados e Discussão:** Os resultados preliminares indicaram que em 3h de exposição: Coc expressou mais pró-caspase-8 do que o Ctrl (p<0,05), A (p<0,05) e C+A (p<0,01), assim como o fragmento de 41Kda (p<0,001, p<0,05 e p<0,05, respectivamente) e maior do que o Ctrl no fragmento de 25Kda (p<0,0001). Não ativou caspase-9, não alterou a razão Bax/Bcl-2, mas ativou caspase-3, com maior expressão de pró-caspase e caspase clivada (17kda) do que Ctrl (p<0,0001 e p<0,001, respectivamente), A (ambas p<0,0001) e C+A (ambas p<0,0001). Sugerindo que a Coc pode ativar a apoptose mediada por caspase-8 nesse período de exposição. AEME apresentou maior expressão do fragmento de 25Kda do que o Ctrl (p<0,01), expressou mais o fragmento clivado de caspase-9 do que Coc (p<0,05), razão Bax/Bcl-2 normal e menor expressão de pró-caspase-3 do que Ctrl (p<0,05) e caspase clivada do que Coc (p<0,05), sugerindo que nesse tempo, ainda não há morte celular por apoptose por essa droga. C+A, assim como AEME, expressou mais do que o Ctrl o fragmento clivado de caspase-8 (p<0,01), mais do que a Coc o fragmento clivado de caspase-9 (p<0,01), com razão Bax/Bcl-2 normal porém, quanto à caspase-3, a associação expressou mais pró-caspase-3 do que o Ctrl (p<0,001) e AEME (p<0,01), mas menos do que Coc (p<0,0001), e expressou menos o fragmento clivado de 17Kda do que Coc (p<0,0001), mostrando que nesse tempo de exposição a associação se comporta semelhante à AEME diferenciando apenas pela expressão de pró-caspase-3. Em 6h de exposição; Coc não apresentou sinais de ativação das caspases-8 ou -9, mas apresentou maior clivagem de caspase-3 do que o Ctrl (p<0,01), com aumento da razão Bax/Bcl-2. Como a ativação de Bax antecede ativação de caspase-9, esperamos observar ativação dessa via em tempo maior de 6h de exposição. AEME expressou mais pró-caspase-8 do que Ctrl, sem alterações quanto caspase-9 ou caspase-3, mas com aumento da razão Bax/Bcl-2. C+A, apesar de expressar mais do que o controle o fragmento clivado de caspase-8, a associação das drogas não ativou caspase-9 e apresentou menor razão Bax/Bcl-2 do que as drogas isoladamente, com aumento de pró-caspase-3 e caspase-3 clivada, semelhantemente à Coc em 3h, ou seja, mediado por caspase-8. **Conclusão:** Devido ao reduzido número amostral, ainda é cedo para se caracterizar uma via de ativação da apoptose, mas foi constatado que a associação de drogas comporta-se de modo diferente em 3h e 6h. Cocaína parece ativar caspase-3, "ponto sem retorno" para a morte celular, a partir da via extrínseca da apoptose (mediada por caspase-8) em 3h de exposição e a AEME a partir de 6h. Outras proteínas e vias ainda devem ser investigadas para melhor caracterizar o processo de indução de morte celular decorrente da exposição dessas substâncias. **Apoio financeiro:** FAPESP, CNPq

Referências

- DIECKMANN, L. H. J.; et al. Effects of biperiden on the treatment of cocaine/crack addiction: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **European Neuropsychopharmacology**, v. 24, n. 8, p. 1196-1202, 2014.

- UNODC - United Nations Office on Drugs and Crime. World Drug Report. United Nations publication, 2014. 127 p.

- LANE, S. D.; et al. Diffusion tensor imaging and decision making in cocaine dependence. **PLoS ONE**, v. 5, n. 7, p. e11591, 2010.

- XIE, X.; WELLS, A. M.; FUCHS, R. A. Cocaine Seeking and Taking: Role of Hippocampal Dopamine D1-like Receptors. **The International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 17, n. 9, p. 1533-1538, 2014.

- GARCIA, R. C. T.; et al. Neurotoxicity of Anhydroecgonine Methyl Ester, a Crack Cocaine Pyrolysis Product. **Toxicological Sciences**, v. 128, n.1, p.223-234, 2012.

PLASMÍDEOS E GENES DE RESISTÊNCIA ÀS QUINOLONAS E CEFALOSPORINAS DE TERCEIRA GERAÇÃO EM AMOSTRAS CLÍNICAS E COMENSAIS DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADAS DE FRANGOS DE CORTE, POEDEIRAS E PERUS NO BRASIL

CUNHA, MARCOS PAULO V.1; FRANCO, LETICIA SOUZA¹; CARVALHO, VANIA MARIA¹, MORENO, ANDREA MICKE²; KNÖBL, TEREZINHA¹.

¹Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

² Departamento de Medicina Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Introdução e Objetivos: A pressão seletiva causada pelos antibióticos utilizados como promotores de crescimento ou terapêuticos em animais de produção é uma preocupação atual no mundo todo.1,2 Recentemente, vários trabalhos demonstraram que estirpes de bactérias patogênicas e/ ou multirresistentes são selecionadas no contexto da produção animal.2 Dentre os antibióticos aos quais as bactérias têm apresentando aumento nos níveis de resistências estão as quinolonas e cefalosporinas de terceira geração. Antibióticos pertencentes a essas classes são os mais utilizados na medicina humana e veterinária mundialmente. Normalmente os mecanismos de resistência a essas classes são mediados por plasmídeos e envolvem a produção de enzimas que hidrolisam os antibióticos, como as beta-lactamases de espectro estendido (ESBL), ou bombas de efluxo e proteção do alvo da molécula dos antimicrobianos, no caso da resistência quinolonas (PMQR).3,4 Elementos genéticos móveis como plasmídeos, transposons e integrons têm um papel crucial na disseminação e evolução de genes que codificam essas enzimas entre bactérias.5 Levando isso em conta, o objetivo desse trabalho foi avaliar a presença de plasmídeos e genes de resistência em amostras comensais e patogênicas (*avian pathogenic E. coli* - APEC) de *Escherichia coli* isoladas de frangos, poedeiras e perus de criações comerciais utilizando técnicas moleculares.

Materiais e Métodos: 458 estirpes não duplicadas de *Escherichia coli* isoladas de perus (APEC=225, comensal=130) frangos de corte e poedeiras (APEC=33, comensal=70), em amostras colhidas, no período de 2009 a 2014, em granjas de criação, situadas nos Estados de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo, Brasil foram semeadas em meio de cultura contendo ácido nalidixico (16 mg/L) e ceftiofur (8mg/L). As que apresentaram crescimento foram submetidas à técnica de PCR para a pesquisa de genes plasmidiais de resistência às quinolonas (qnrA, qnrB, qnrC, qnrD, qnrS, oxqAB, qepA e aac(6')Ib-cr), ampC plasmidiais (blaCMY, blaDHA, blaFOX e blaACC) e beta-lactamases de espectro estendido (blaCTX-M, blaSHV e blaTEM). Os produtos foram sequenciados para determinação das variantes. Amostras positivas para qualquer um dos genes tiveram seus plasmídeos classificados pela técnica de PBRT (PCR-based on Replicon Typing) incluindo 22 grupos de incompatibilidade plasmidial (A/C, B/O, F, FII, FIA, FIB, FIC, I1, K, HI1, HI2, L/M, N, P, R, T, U, X, Y, W, ColE, ColETP) e o ambiente genético foi determinado com a pesquisa de sequências de inserção e transposons (IS26, ISEcp1, Tn3 e ISCR1) e da técnica de primer walking. A conjugação de plasmídeos foi realizada com a estirpe *E. coli* C600 (ATCC 23724) como receptora. A extração e purificação dos plasmídeos foi realizada com o kit comercial (Wizard Plus SV, Promega, USA). Plasmídeos ColE-like foram completamente sequenciados com técnicas de primers divergentes e primer walking. As análises, alinhamento e anotação dos plasmídeos foi realizada com os softwares ClustalX2 v2.1 (http://www.clustal.org/clustal2/), BioEdit v7.0.9 (http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html), BLAST (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) e Artemis (Sanger Institute, UK).

Resultados e Discussão: Dentre as estirpes isoladas dos perus, 42 APEC foram positivas para pelo menos um gene plasmidial de resistência às quinolonas (tabela 1) e 16 amostras comensais tiveram resultados positivos. Dentre as 33 amostras qnrB positivas (22 APEC, 11 fecal), 32 apresentaram a variante qnrB19, que estava inserida em pequenos plasmídeos do grupo ColE-like com tamanhos entre 2.7 and 3.5 Kb. Uma amostra apresentou uma nova variante qnrB (em análise pela curadoria). O total de amostras dos perus que apresentou genes ESBL ou AmpC é apresentado na tabela 1. As amostras fecais de galinhas e frangos de corte (n=70) apresentaram alto índice de ESBL (87%), com predomínio de enzimas CTX-M-2 e CTX-M15, além duas amostras produtoras de CTX-M-8. Em todas as amostras ESBL e PMQR, os genes CTX-M-2 e qnrA1 estavam inseridos em integrons de classe 1 associados a ISCR1. Já as amostras CTX-M-15, CTX-M-8 e CMY-2 apresentaram o elemento ISEcp1 a jusante. Os plasmídeos ColE-like portando o gene qnrB19 sequenciados (n=8) apresentaram alta similaridade (96-100%) entre si e com seqüências de plasmídeos do mesmo tipo detectados em *E. coli* e *Salmonella* spp. isoladas de humanos na Colômbia, Peru e Argentina [6–8]. Os plasmídeos sequenciados continham a mesma estrutura: o gene qnrB19 e três ORFs (open reading frames), sendo um possivelmente envolvidos na replicação e um hipotético, além do gene *psp* truncado e seqüências homólogas a IRs (inverted repeats) de ISEcp1. Estudos realizados na Europa e Ásia mostraram que plasmídeos que portam qnrB19 nesses continentes são grandes (>50 Kb) e conjugativos e pertencentes ao grupo IncN [4,9]. Quando comparados com dados dos estudos realizados com estirpes soladas de humanos na Colômbia, Peru e Argentina, os achados do presente trabalho sugerem a endemicidade de estirpes portando plasmídeos ColE-like qnrB19 na América do Sul e a possível participação das aves de produção na cadeia epidemiológica e transmissão dessas estirpes para humanos.

Em relação às beta-lactamases, a presença dos genes codificadores das enzimas CTX-M-2 e CTX-M-8 está de acordo com outros achados na América do Sul, pois estas duas ESBL foram primeiramente descritas em amostras nosocomiais da Argentina e Brasil, respectivamente. No Brasil só existem relatos de estirpes de *E. coli* produtoras de CTX-M-2 em aves de produção e com prevalência muito menor ao constatado no presente trabalho. No entanto, um dado preocupante foi a detecção de CTX-M-15 e CMY-2 nas aves de produção. *E. coli* produtoras de CTX-M-15 são um problema mundial que se iniciou em 2008, com a descrição de uma linhagem virulenta e multirresistente denominada ST131. Após os primeiros relatos na Europa e Estados Unidos, essa linhagem se espalhou pelo mundo, sendo considerada uma linhagem pandêmica de *E. coli*, mas com raros relatos na América do Sul, geralmente relacionados a

estirpes isoladas de infecções em humanos. A emergência de CTX-M-15 aqui apresentada pode indicar o mesmo fenômeno observado por Sennati et al. (2012) na Argentina, a mudança na epidemiologia e no perfil populacional de *E. coli* ESBL de CTX-M-2 para CTX-M-15 [10]. **Conclusão:** Foi relatada a alta prevalência de *E. coli* produtoras de ESBL, AmpC e PMQR em frangos e perus no Brasil. A disseminação da resistência aos principais antimicrobianos por elementos móveis na cadeia de produção de aves é uma preocupação não apenas para saúde animal, mas também para a saúde pública. O uso racional e controlado de antimicrobianos na produção animal é necessário, assim como a implementação de estratégias de monitoramento e vigilância da resistência em bactérias de origem animal.

Referências

[1] AARESTRUP, F. M. Veterinary drug usage and antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, v. 96, p. 271-81, 2005.

[2] AARESTRUP, F. M. The livestock reservoir for antimicrobial resistance: a personal view on changing patterns of risks, effects of interventions and the way forward. *Philos Trans R Soc London Ser B-Biologic*, v. 370, n. 1-13, 2015.

[3] BUSH, K. Bench-to-bedside review: the role of beta-lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. *Crit Care*, v. 14, p. 224, 2010.

[4] JACOBY, G. A.; STRAHILEVITZ, J.; HOOPER, D. C. Plasmid-Mediated Quinolone Resistance. *Microbiol Spectr*, v. 2, p.1-24, 2014.

[5] PERRY, J. A.; WESTMAN, E. L.; WRIGHT, G. D. The antibiotic resistome: what's new? *Curr Opin Microbiol*, v. 21C, p. 45-50, 2014.

[6] TRAN, T.; ANDRES, P.; PETRONI, A.; SOLER-BISTUÉ, A.; ALBORNOZ, E.; ZORREGUIETA, A.; et al. Small plasmids harboring qnrB19: a model for plasmid evolution mediated by site-specific recombination at oriT and Xer sites. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 56, p. 1821-7, 2012.

[7] PALLECCHI, L.; RICCOBONO, E.; SENNATI, S.; MANTELLA, A.; BARTALESI, F.; TRIGOSO, C.; et al. Characterization of small ColE-like plasmids mediating widespread dissemination of the qnrB19 gene in commensal enterobacteria. *Antimicrob Agents Chemother*; v. 54, p. 678-82, 2010.

[8] KARCZMARCZYK, M.; MARTINS, M.; MCCUSKER, M.; MATTAR, S.; AMARAL, L.; LEONARD, N.; et al. Characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* food and animal isolates from Colombia: Identification of a qnrB19-mediated quinolone resistance marker in two novel serovars. *FEMS Microbiol Lett*, v. 313, n. 10-9, 2010.

[9] GARCÍA-FERNÁNDEZ, A.; FORTINI, D.; VELDMAN, K.; MEVIUS, D.; CARATTOLI, A. Characterization of plasmids harbouring qnrS1, qnrB2 and qnrB19 genes in *Salmonella*. *J Antimicrob Chemother*, v. 63, n. 274-81, 2009.

[10] SENNATI, S.; SANTELLA, G.; DI CONZA, J.; PALLECCHI, L.; PINO, M.; GHIGLIONE, B.; et al. Changing Epidemiology of Extended-Spectrum Beta-Lactamases in Argentina: Emergence of CTX-M-15. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 56, p. 6003-5, 2012.

Tabela 1 - Distribuição dos genes codificadores de resistência às quinolonas (PMQR), beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) e AmpC plasmidiais, assim como os respectivos plasmídeos e ambiente genético, em 458 amostras de *Escherichia coli* isoladas de perus, poedeiras e frangos de corte, no Brasil, no período de

Ave (N)	PMQR				ESBL				ampC			
	Gene	N	Plasmídeos	Ambiente Genético	Gene	N	Plasmídeos	Ambiente Genético	Gene	N	Plasmídeo	Ambiente Genético
Perus (225 APEC, 130 fecal)	<i>qnrA1</i>	17	A/C, FII, HI2	Integron classe 1-ISCR1	CTX-M-2	5	II, L/M, B/O, F, FII, FIA, FIB, N	Integron classe 1-ISCR1	CMY-2	11	A/C, II	ISEcep1
	<i>qnrB19</i>	32	ColE	<i>pspF</i> , Δ ISEcep1								
	<i>qnrB-like</i>	1	ND*	<i>pspF</i> , <i>sapA</i>								
	<i>qnrS1</i>	7	N, HI1	Tn3	CTX-M-8	10	II, F, FII, FIA, FIB, N	ISEcep1				
	<i>oqxAB</i>	2	F, X, HI2, L/M	IS26								
Frangos e poedeiras (33 APEC, 70 comensal)	<i>qnrB19</i>	7	ColE	<i>pspF</i> , Δ ISEcep1	CTX-M-2	38	II, L/M, ColE, F, FII, FIA, FIB,	Integron classe 1-ISCR1				
	<i>oqxAB</i>	2	X, HI2, II	IS26	CTX-M-8	2	II, ColE, FII, FIA, FIB	ISEcep1				
	<i>qnrS1</i>	1	N, HI1	Tn3	CTX-M-15	20	II, L/M, B/O, F, FII, FIA, FIB, N, A/C, ColE	ISEcep1				

*ND=Não determinado

"LACAZIOSIS-LIKE DISEASE" EM *TURSIOPS TRUNCATUS* DA COSTA BRASILEIRA: UMA ABORDAGEM HISTOPATOLOGICA E IMUNOISTOQUÍMICA

SACRISTÁN, CARLOS 1*; RÉSSIO, RODRIGO ALBERGARIA 2; CASTILHO, PEDRO 3; FERNANDES, NATÁLIA COELHO COUTO DE AZEVEDO 2; COSTA-SILVA, SAMIRA 1; ESPERÓN, FERNANDO 4; DAURA-JORGE, FÁBIO GONÇALVES 5; GROCH, KÁTIA R. 1; KOLESNIKOVAS, CRISTIANE K. M. 6; MARIGO, JULIANA 1; OTT, PAULO HENRIQUE 7,8; OLIVEIRA, LARISSA ROSA DE 7,9; SÁNCHEZ-SARMIENTO, ANGÉLICA MARÍA 1, SIMÕES-LOPES, PAULO C. 5; CATÃO-DIAS, JOSÉ LUIZ 1.

1 Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil;

2 Instituto Adolfo Lutz, Brasil;

3 Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil;

4 Grupo de Epidemiología y Sanidad Ambiental, Centro de Investigación em Sanidad Animal (INIA-CISA), Espanha;

5 Departamento de Ecologia e Zoologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil;

6 Associação R3 Animal, Brasil;

7 Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul – GEMARS, Brasil;

8 Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), Brasil;

9 Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS, Brasil.

Email: carlosvet.sac@gmail.com

Introdução e objetivos: A lacaziosis-like disease ou lobomycosis-likedisease (LLD) dos cetáceos é uma doença cutânea crônica causada por leveduras não cultiváveis da ordem Onygenales (1,2), que também inclui *Lacazia loboi*, assim como *Paracoccidioides brasiliensis* e *P. lutzii*, responsáveis

respectivamente pela lacaziose e paracoccidioidomicose em humanos (3,4,5,6). A completa identificação e classificação filogenética do agente etiológico da LLD ainda precisam ser elucidadas, mas análises preliminares filogenéticas evidenciaram maior proximidade entre o agente da LLD e *Paracoccidioides* spp., do que à *L. loboi* (7,8,9). Vários casos sugestivos de LLD têm sido comunicados em pequenos cetáceos da América do Sul, segundo identificação fotográfica (10,11,12), mas existem apenas três casos com confirmação histopatológica (13,14,15). O presente trabalho detectou o agente causador de LLD no sul do Brasil e o caracterizou com o emprego métodos histopatológicos e imunoistoquímicos. **Material e Métodos:** Foram avaliadas múltiplas amostras teciduais de quatro golfinhos-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) enalhados nos Estados de Santa Catarina (n=3) e Rio Grande do Sul (n=1), sul do Brasil. Este último indivíduo já havia sido diagnosticado anteriormente com base em avaliação histopatológica (15). As colorações de hematoxilina-eosina, ácido periódico Schiff, Grocott metaminado de prata e mucicarmin de Mayer foram utilizadas no exame histopatológico. A imuno-histoquímica (IHQ) foi realizada por meio do emprego de anticorpo primário frente à glicoproteína gp43 de *P. brasiliensis*, conhecido por apresentar reação cruzada com *L. loboi* e com o agente da LLD (9). **Resultados e Discussão:** Macroscopicamente, todos os animais apresentavam lesões compatíveis com LLD. Microscopicamente, numerosas leveduras refratárias (4-9 µm de diâmetro) foram observadas nas amostras de pele (4/4) e, pela primeira vez em golfinhos, em um abscesso em musculatura esquelética (1/4), marcando positivo na IHQ.

Os achados microscópicos são compatíveis com as descrições histológicas prévias de LLD em cetáceos (1,16). A presença de leveduras em um abscesso na muscular nunca havia sido descrita em golfinhos, e pode ser um indicativo da capacidade invasiva deste agente.

Os resultados imunoistoquímicos são similares ao observados em *T. truncatus* no Japão por Ueda et al. (2013). Esta é a primeira vez que a IHQ é realizada em animais com lesão compatível com LLD nas Américas.

Tabela 1 - Segundo a identificação, data e local do encalhe na costa brasileira, sexo e tamanho dos exemplares de estudados.

Identificação	Data	Local	Sexo	Comprimento Total (cm)
MM625	21 Outubro 2014	Baía Sul, Florianópolis, SC (-27,61535 S/ -48,62545 O)	Macho	317
MM626	30 Outubro 2013	Estuário de Laguna, SC (-28,39662 S/ -48,88642 O)	Macho	301
MM509	04 Outubro 2011	Florianópolis, SC (-27,57185 S/ -48,42609 O)	Macho	320
GEMARS 1259	03 Novembro 2005*	Estuário de Tramandaí, RS (-29,98226 S/ -50,13507 O)	Macho	339

* Último animal previamente diagnosticado com LLD (15).

Identificação	Localização lesões	Descrição histopatológica
MM509	Parte medial do corpo, pedúnculo e cauda.	Dermatite perivascular granulocítica difusa, acantose, áreas focais de atrofia da derme e presença multifocal de leveduras, células polimorfonucleares e células gigantes. Abscesso muscular contendo abundantes leveduras e células polimorfonucleares.
MM625	Mandíbula, proximidades da nadadeira peitoral, pedúnculo e cauda.	Dermatite perivascular, infiltrado misto, acantose. Presença multifocal de leveduras e células gigantes.
MM626	Parte medial do corpo.	Presença de numerosas leveduras. Ausência decélulas inflamatórias. Perda da epiderme.

Tabela 2. Localização e achados histopatológicos dos novos casos de lacaziosis-like disease (LLD) diagnosticados em espécimens de *Tursiops truncatus* enalhados na costa brasileira.

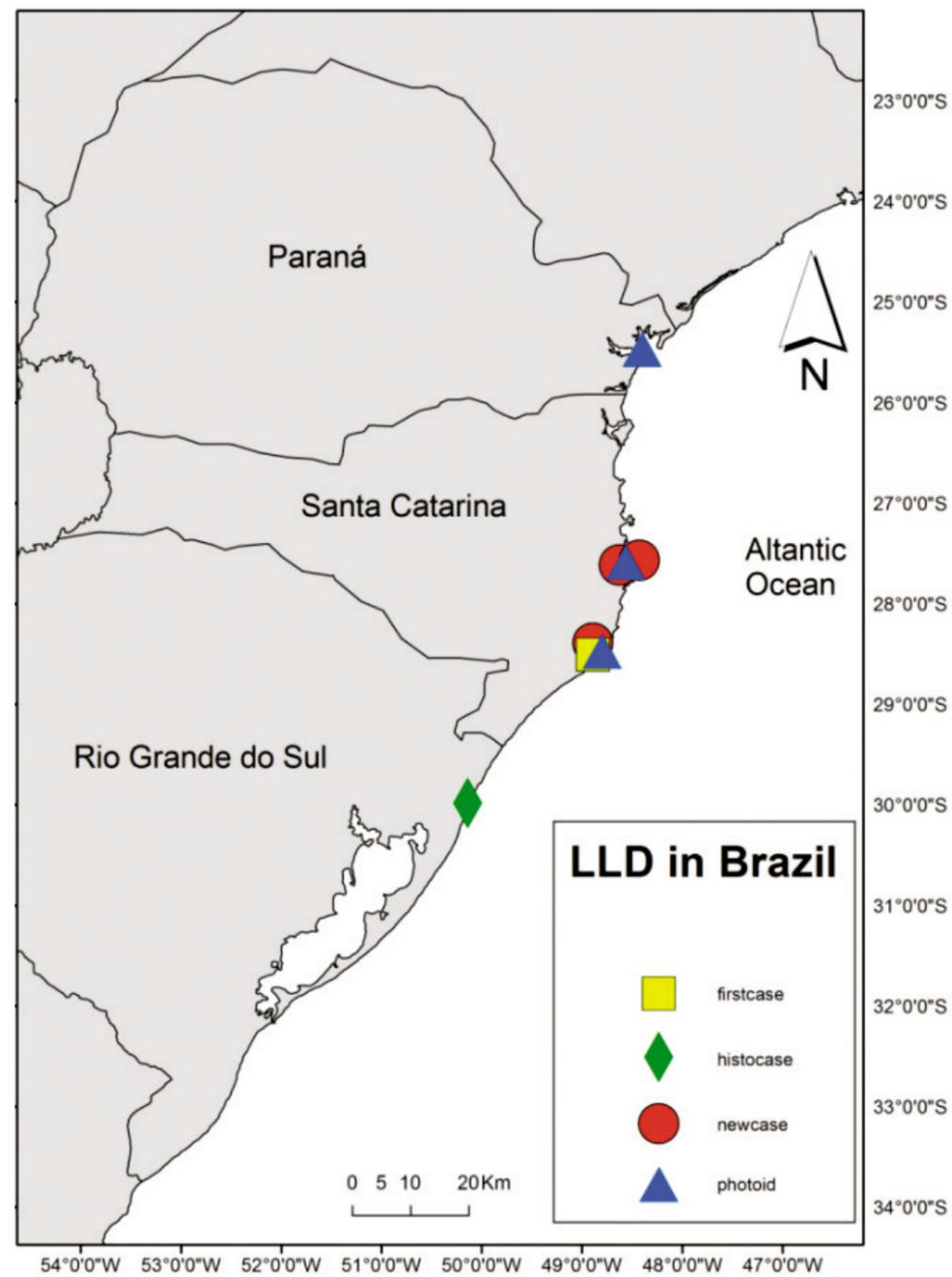


Figura 1 - Casos de lacaziosis-like disease (LLD) em espécimes de *Tursiops truncatus* no Brasil: quadrado: primeiro caso conhecido; triângulo: casos diagnosticados por foto-identificação; losango: casos antigos confirmados por histopatologia; círculo: novos casos.

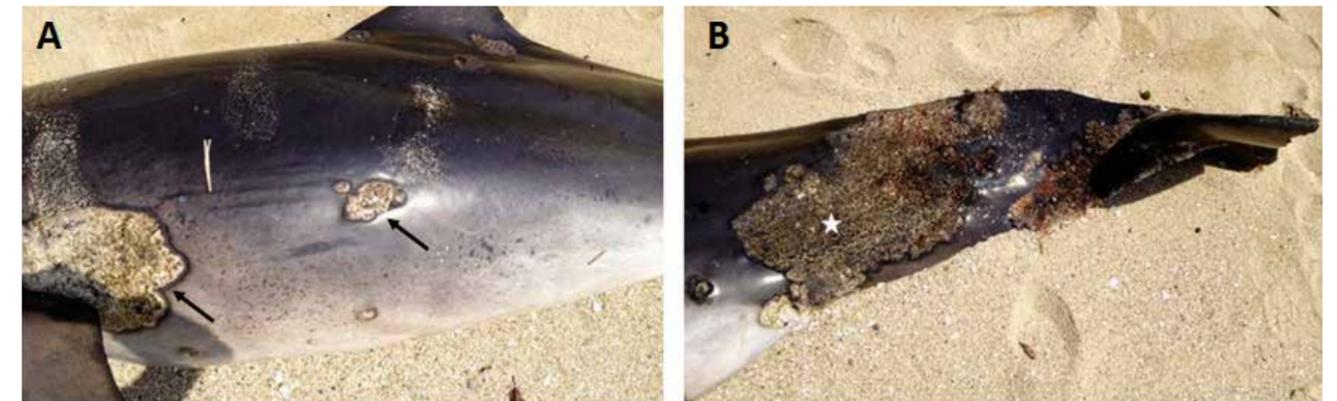


Figura 2 - Lesões cutâneas decorrentes de lacaziosis-like disease (LLD) no corpo (seta) (A) e pedúnculo (estrela) (B) do indivíduo MM625.

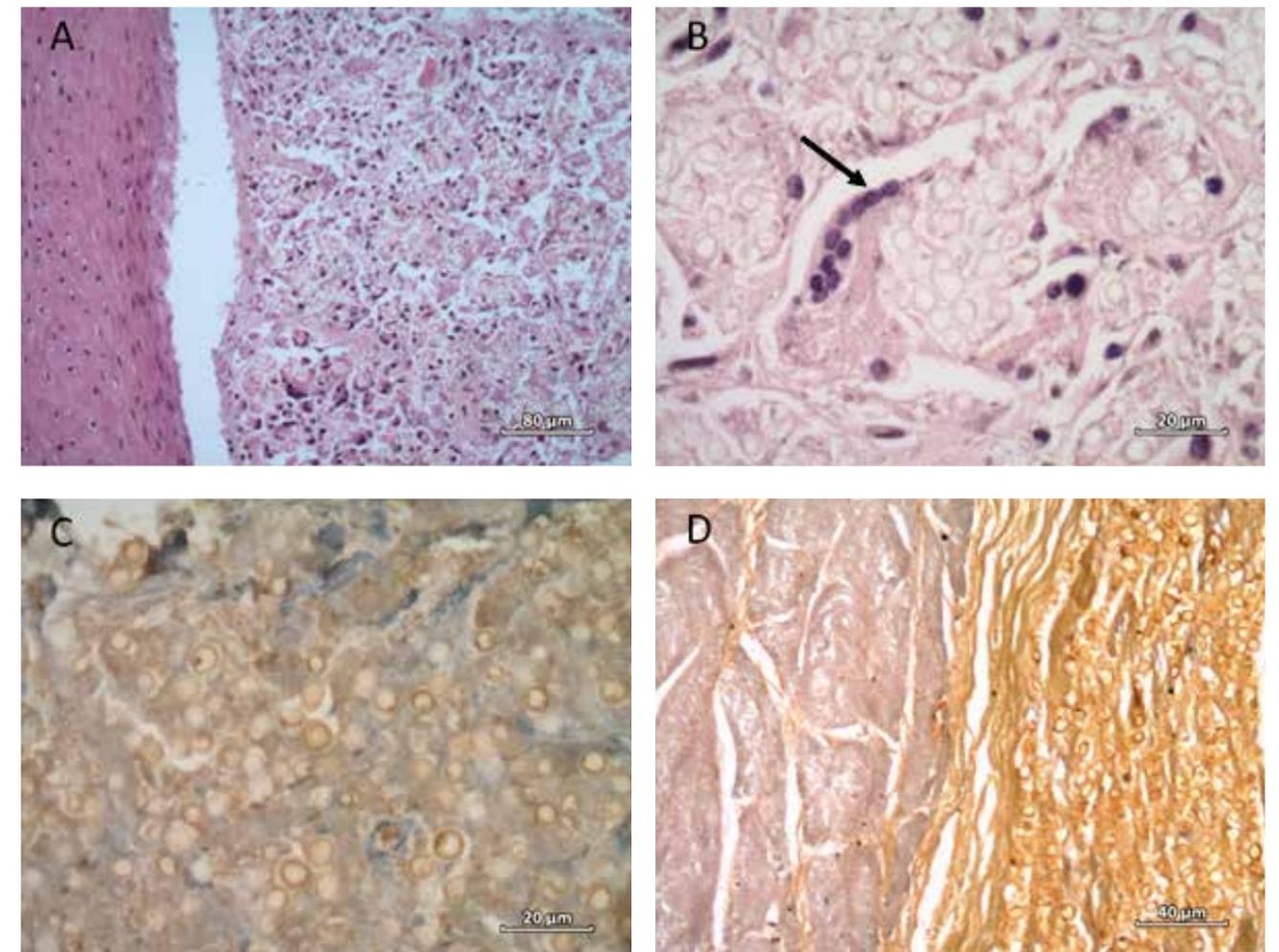


Figura 3 - A) MM625, Pele. Lesões granulomatosas em epiderme (escala 80 μm); B) MM625, Pele. Células gigantes contendo leveduras (seta) (escala 20 μm); C) MM625, Pele. Leveduras esféricas marcadas positivamente por reação imuno-histoquímica (escala 20 μm); D) MM509, Músculo. Presença de leveduras em abscesso, coradas com GMS (escala 40 μm).

Conclusões: Neste estudo diagnosticamos três novos casos de LLD em *T. truncatus* mediante histopatologia, e pela primeira vez nas Américas, a IHQ foi utilizada para caracterizar os quatro casos descritos. Este estudo descreve o primeiro caso de LLD em musculatura esquelética de cetáceos. Pesquisas adicionais são necessárias para estabelecer a taxonomia do agente de LLD em cetáceos. **Apoio financeiro:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP- 2010/51801-5), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Santa Catarina (FAPESC- nº 2913TR 003469 e nº 2015TR 000286).

Referências

- MIGAKI, G. et al. Lobo's disease in an Atlantic bottle-nosed dolphin. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Ithaca, v. 159, n. 5, p. 578-582, Sept. 1971.
- BOSSART, G. D. Emerging diseases in marine mammals: from dolphins to manatees. *Microbe. Mag.*, v. 2, n. 11, p. 544-549, Nov. 2007.
- TABORDA, P. R.; TABORDA, V. A.; MCGINNIS, M. R. Lacazia lobo gen. nov., comb. nov., The etiologic agent of lobomycosis. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, v. 37, n. 6, p. 2031-2033, Jun. 1999.
- HERR, R. A. et al. Phylogenetic analysis of Lacazia lobo places this previously uncharacterized pathogen within the dimorphic Onygenales. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, v. 39, n. 1, p. 309-314, Jan. 2001.
- AL-DARAJI, W. I.; HUSAIN, E.; ROBSON, A. Lobomycosis in African patients. *Br. J. Dermatol.*, Oxford, v. 159, n. 1, p. 234-236, July, 2008.
- TEIXEIRA, M. M. et al. Paracoccidioides lutzii sp. biological and clinical implications. *Med. Mycol.*, Oxford, v. 52, n. 1, p. 19-28, Jan. 2014.
- ROTSTEIN, D. S. et al. Lobomycosis in offshore bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*), North Carolina. *Emerg. Infect. Dis.*, Atlanta, v. 15, n. 4, p. 588-590, Apr. 2009.
- ESPERÓN, F. et al. Molecular diagnosis of lobomycosis-like disease in a bottlenose dolphin in captivity. *Med. Mycol.*, Oxford, v. 50, n. 1, p. 106-109, Jan. 2012.
- UEDA, K. et al. Two cases of lacaziosis in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Japan. *Case Reports Vet. Med.*, p. 1-9, 2013.
- FLORES, P. et al. Evidência de residência individual e ocorrência de lesões epidérmicas em golfinhos *Tursiops truncatus* na Baía Norte, SC, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MASTOZOLOGIA, 3., Aracruz, 2005. Anais... Aracruz: [s.n.], 2005. p. 87.
- VAN BRESSEM, M. F.; SANTOS, M. C. D. O.; OSHIMA, J. E. D. F. Skin diseases in Guiana dolphins (*Sotalia aguianensis*) from the Paranaguá estuary, Brazil: a possible indicator of a compromised marine environment. *Mar. Environ. Res.*, v. 67, n. 2, p. 63-68, Mar. 2009.
- DAURA-JORGE, F. G.; SIMÕES-LOPES, P. C. Lobomycosis-like disease in wild bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* of Laguna, Southern Brazil: monitoring of a progressive case. *Dis. Aquat. Organ.*, Oldendorf/Luhe, v. 93, n. 2, p. 163-170, Jan. 2011.
- VRIES, G.; LAARMAN, J. A case of Lobo's disease in the dolphin *Sotalia guianensis*. *Aquat. Mamm.*, v. 3, p. 26-33, 1973.
- SIMÕES-LOPES, P. C. et al. First case of lobomycosis in a bottlenose dolphin from Southern Brazil. *Mar. Mammal. Sci.*, v. 9, n. 3, p. 329-331, July 1993.
- MORENO, I. B. et al. Mycotic Dermatitis in common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from Southern Brazil, with a confirmed record of lobomycosis disease. In: INTERNATIONAL WHALING COMMISSION, WORKSHOP ON CETACEAN SKIN DISEASES, Cambridge, 2008. Anais... 2008. Cambridge: [s.n.], 2008. p. 1-11.
- HAUBOLD, E. M. et al. Comparative morphology of Lacazia lobo (syn. Loboia lobo) in dolphins and humans. *Med. Mycol.*, Oxford, v. 38, n. 1, p. 9-14, Feb. 2000.

Normas para publicação

- As colaborações enviadas à **Revista de Educação Continuada em Veterinária e Zootecnia** na forma de artigos, pesquisas, nota prévia, comentários, atualizações bibliográficas, relatos de casos, notícias e informações de interesse para a classe médica veterinária e de zootécnicos devem ser elaboradas utilizando softwares padrão IBM/PC (textos em Word for DOS ou Winword, até versão 2007; gráficos em Winword até versão 2007, Power Point ou Excel 2007) ou Page Maker 7, ilustrações em CorelDraw até versão X3 (verificando para que todas as letras sejam convertidas para curvas) ou Photoshop até versão CS4.

- Revisão:** Os artigos de revisão têm estrutura livre, de acordo com os objetivos do(s) autor(es) e da Revista, o artigo de Revisão deve apresentar avaliações críticas sistematizadas da literatura sobre determinado assunto. De preferência, a estrutura deve contemplar o resumo, a introdução e os objetivos, as fontes consultadas, os critérios adotados, a síntese dos dados, conclusões e comentários.

- Artigo técnico:** Contribuição destinada a divulgar o estado da arte e da ciência em assuntos técnico-científicos que envolvem a Medicina Veterinária e Zootecnia. Trata-se de abordagem contemplando informações com o objetivo de educação continuada, uma vez que contribuições científicas com resultados de pesquisas originais devem ser publicadas em revistas especializadas e com corpo e perfil editorial específico. A estrutura é livre, devendo conter o resumo, a introdução, os objetivos do artigo e referências.

- Relato de caso:** Serão aceitos para publicação os relatos que atenderem os objetivos da educação continuada nas áreas da Medicina Veterinária e da Zootecnia. Estrutura: Introdução, Descrição do Caso, Discussão e Conclusões, Referências.

- Ensaio:** Estudos teóricos de determinados temas apresentados sob enfoque próprio do(s) autor(es).

- Com a finalidade de tornar mais ágil o processo de diagramação da Revista, solicitamos aos colaboradores que digitem seus trabalhos em caixa alta e baixa (letras maiúsculas e minúsculas), evitando títulos e/ou intertítulos totalmente em letras maiúsculas. O tipo da fonte pode ser Times New Roman, ou similar, no tamanho 12.

- Os gráficos, figuras e ilustrações devem fazer parte do corpo do texto e o tamanho total do trabalho deve ficar entre 6 e 9 laudas (aproximadamente nove páginas em fonte Times New Roman 12, com espaço duplo e margens 2,5 cm). No caso dos artigos de revisão, em casos excepcionais, o tamanho total do trabalho poderá ser superior a nove páginas.

- Do trabalho devem constar: o nome completo do autor e coautores, nome completo das instituições às quais pertencem, summary, resumo e palavras-chave.

- As referências bibliográficas devem obedecer às normas técnicas da ABNT-NBR-6023 e as citações conforme NBR 10520, sistema autor-data.

- Para a garantia da qualidade da impressão, são indispensáveis as fotografias e originais das ilustrações a traço. Imagens digitalizadas deverão ser enviadas mantendo a resolução dos arquivos em, no mínimo, 300 pontos por polegada (300 dpi).

- O primeiro autor deverá fornecer o seu endereço completo (rua, no, CEP, cidade, Estado, país, telefone, fax e e-mail), o qual será o canal oficial para correspondência entre autores e leitores.

- Os trabalhos deverão ser encaminhados exclusivamente on-line para comunicacao@crmvsp.gov.br.

- Recebido o trabalho pela Redação, será enviada declaração de recebimento ao primeiro autor, no prazo de dez dias úteis. Caso isso não ocorra, deve-se entrar em contato com a Assessoria de Comunicação do CRMV-SP pelo telefone (11) 5908-4772.

- Arquivos que excederem a 1 MB deverão ser enviados zipados (WinZip ou WinRAR).

- Será necessário que os colaboradores mantenham seus programas anti-vírus atualizados.

- As colaborações técnicas serão devidamente analisadas pelo Corpo Editorial da revista e, se aprovadas, será enviada ao primeiro autor declaração de aceite, via e-mail.

- As matérias serão publicadas conforme ordem cronológica de chegada à redação. Os autores serão comunicados sobre eventuais sugestões e recomendações oferecidas pelos consultores.

- Não serão remetidos trabalhos via fax.

- As matérias enviadas para publicação não serão retribuídas financeiramente aos autores, os quais continuarão de posse dos direitos autorais referentes às mesmas. Parte ou resumo das matérias publicadas nesta revista enviadas a outros periódicos deverão assinalar obrigatoriamente a fonte original.

- Quaisquer dúvidas deverão ser imediatamente comunicadas à redação pelo e-mail comunicacao@crmvsp.gov.br.



Dúvidas

comunicacao@crmvsp.gov.br

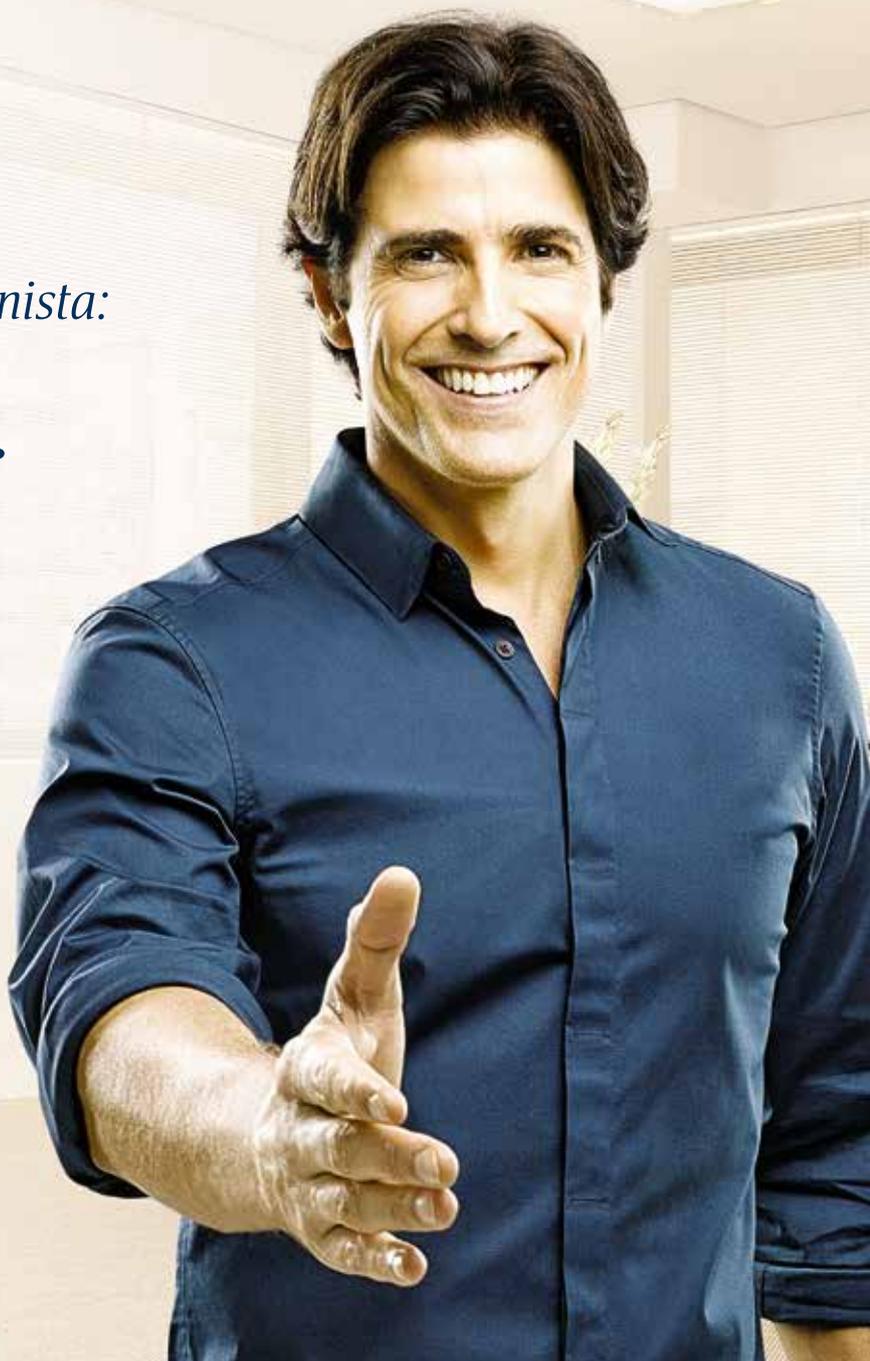
Médico Veterinário ou Zootecnista: Venha cuidar da sua saúde com qualidade e economia.

Para você ter os melhores planos de saúde,
pelo melhor preço,¹ a **Qualicorp** está do seu lado.

São inúmeras opções com o melhor da medicina
para você escolher uma que atenda às suas necessidades.

Somos líder de mercado e administramos
os planos de milhões de brasileiros. Temos parceria
com o CRMV-SP e mais de 500 entidades de classe
e utilizamos a força dessa coletividade para negociar
preços mais baixos para você.

Planos
a partir de R\$ **141**
(valor mensal por pessoa)²



Opção, qualidade
e credibilidade.

SulAmérica
Saúde

Amil

Lincx

Unimed 
Paulistana

Ligue agora e venha economizar com a Qualicorp.

0800 799 3003

De segunda a sexta-feira, das 9h às 21h; aos sábados, das 10h às 16h.

www.qualicorpdoseulado.com.br

 **Qualicorp**
Sempre do seu lado.