

pigmentação corneana encontrava-se menos homogênea (Tabela 5).

Tabela 5 - Resultados da avaliação oftalmológica 30 dias após implantação das células-tronco nos animais 1 e 2

Testes/exames	Cão 1	Cão 2
Secreção mucopurulenta	++ AO	++ AO
Teste de Ameaça	Positivo OD Reduzido OE	Reduzido AO
Teste de movimento	Reduzido AO	Negativo AO
Teste de Schirmer	04/05	00/00
Teste de Butt	Incerto	Incerto
Aspecto das glândulas	Degeneração ++ AO	Degeneração ++++ AO
PIO	13/14	12/09
Aspecto corneano	Opacidade ++OD +++OE Pigmentação +++ AO	Opacidade ++++ AO Pigmentação +++ AO

AO= ambos olhos; OD=olho direito; OE=olho esquerdo; PIO=Pressão intraocular. Score da intensidade variando de + a ++++

Nesta mesma ocasião, 30 dias após injeção foi realizada nova aplicação com cerca de 1.000.000 de células-tronco em cada glândula lacrimal da terceira pálpebra. Após sete dias dessa nova injeção houve uma redução no teste de Schirmer do cão1, a menos afetada foi observada. O teste de Schirmer também se apresentou reduzido, porém notou-se que a secreção mucopurulenta também foi reduzida significativamente não voltando ao estágio inicial, principalmente no cão2, a mais afetada.

Tabela 6. Resultados da avaliação oftalmológica aos sete dias após a segunda implantação das células-tronco nos animais 1 e 2

Testes/exames	Cão 1	Cão 2
Secreção mucopurulenta	++ AO	++ AO
Teste de Ameaça	Positivo OD reduzido OE	Reduzido AO
Teste de movimento	Reduzido AO	Negativo AO
Teste de Schirmer	02/03	00/00
Teste de Butt	Incerto	Incerto
Aspecto das glândulas	Degeneração ++ AO	Degeneração ++++ AO
PIO	13/14	12/09
Aspecto corneano	Opacidade ++ OD +++OE Pigmentação +++ AO	Opacidade ++++ AO Pigmentação +++ AO

AO= ambos olhos; OD=olho direito; OE=olho esquerdo; PIO=Pressão intraocular. Score da intensidade variando de + a ++++

Conclusão: Após a injeção das células-tronco de membrana amniótica houve melhora no teste de Schirmer após quinze dias da inoculação, porém ao longo do período de tratamento não foi observada melhora clínica significante. Entretanto, o aspecto da glândula foi diferenciado, e a secreção mucopurulenta apresentou redução na sua quantidade desde a primeira semana de tratamento. Diante destes resultados pode-se concluir que o estágio crônico o qual os animais se encontravam pode ser um fator limitante tornando a KCS irreversível nesses casos. Dessa forma precisa ser avaliado, o tratamento de animais que estejam em estágios menos avançados da doença.

SUSCEPTIBILIDADE DE HAMSTERS FRENTE À INFECÇÃO PELO HERPESVIRUS EQUINO TIPO 1 CAUSANDO ENCEFALITE E DOENÇA RESPIRATÓRIA

ARÉVALO, A.F.¹; MORI, E.^{1,2}; MORI, C.M.C.¹; CUNHA, E.M.S.³; LARA, M.C.C.S.H.³; VILLALOBOS, E.M.C.³; MIYASHIRO, S. I.¹; ZANATTO, D. A.¹; TONIETTI, P.O.¹; GAMON, T.H.¹; MAIORKA, P.C.¹

1. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil
2. Instituto Pasteur, São Paulo, SP, Brasil
3. Instituto Biológico, São Paulo, SP, Brasil

Introdução e objetivos: O herpesvírus equino tipo 1 (EHV-1) é um patógeno de suma importância, responsável por perdas significativas nos plantéis, fato que, sob o ponto de vista econômico, o torna uma ameaça potencial à criação mundial de cavalos uma vez que a sua distribuição é cosmopolita. Esse vírus tem sido identificado como a causa de abortamentos, mortalidade neonatal, doença respiratória e manifestações neurológicas em cavalos [1,2]. Modelos experimentais de infecção pelo EHV-1 utilizando roedores, como camundongos e hamsters, são úteis para o estudo da resposta

do hospedeiro ao vírus, pois muitos dos aspectos da etiopatogenia da doença nessas espécies se assemelham aos observados no hospedeiro natural [3]. O camundongo é um excelente modelo para estudo da etiopatogenia da encefalite causada por estirpes neuropatogênicas do herpesvírus equino tipo 1 (EHV-1) [4]. No entanto, pesquisas recentes evidenciaram que a infecção estabelecida pela via intranasal em hamsters resultou em sintomas mais agudos e severos do que nos camundongos, sugerindo uma maior susceptibilidade da espécie ao agente [5,6]. Com base nesses dados, o presente trabalho foi delineado para avaliar as alterações respiratórias e neurológicas decorrentes da infecção pelo EHV-1 em hamsters, comparando a susceptibilidade desse modelo com estudos realizados em camundongos e equinos. **Materiais e métodos:** Hamsters Sírios machos, com três semanas de idade, foram infectados pela via intranasal com estirpes do EHV-1, obtidas de fetos abortados e potros infectados pelo vírus (A4/72, A9/92, A3/97 e ISO/72). Os hamsters foram pesados e examinados diariamente observando-se o aparecimento de manifestações neurológicas e/ou respiratórias da doença. De acordo com o aparecimento dos sintomas, grupos de cinco hamsters foram submetidos à eutanásia por overdose de isoflurano e deles foram coletados os materiais: SNC, pulmões, timo, fígado e baço que foram encaminhados tanto para a realização de isolamento viral em cultura de células E-dermal como para exame histopatológico. Em uma segunda etapa que também utilizou cinco hamsters por grupo, inoculados com as mesmas estirpes virais, após eutanásia por aplicação intraperitoneal de overdose de cetamina e xilazina, foi realizada para a obtenção do lavado bronco-alveolar (LBA). Foi determinada a contagem total e diferencial de glóbulos brancos a partir do LBA dos hamsters. **Resultados e discussão:** De forma similar aos experimentos realizados com camundongos, os hamsters desafiados com as estirpes A4/72 e A9/92 apresentaram manifestações clínicas severas no 3º dia pós-inoculação (dpi) tais como a perda de peso representada no gráfico 1, apatia, dispnéia, desidratação, decúbito e morte. Também foram observados sinais neurológicos como hiperexcitabilidade, paralisia espástica, perda de propriocepção, andar em círculos e convulsões. Ao contrário do modelo murino, em que não foi desenvolvida a doença, os hamsters inoculados com as estirpes A3/97 e ISO/72 apresentaram sintomas clínicos e neurológicos no 4º dpi, onde as alterações respiratórias foram as mais evidentes, com destaque para a epistaxe. O isolamento do vírus do SNC foi positivo em todos os animais; no entanto, os pulmões foram positivos apenas nos grupos infectados pelas estirpes A9/92 e A4/72. Nos demais órgãos houve variação de resultado entre os grupos como visualizado na tabela 1. O LBA mostrou que a contagem total de leucócitos apresentou maior número de células brancas nos hamsters infectados por A4/72 quando comparado com A9/92, A3/97 e ISO/72 e grupo controle. Entretanto, o aumento de leucócitos total encontrado nos grupos de hamsters inoculados não foi significativo ($p > 0,05$) quando comparado ao valor de leucócitos total do grupo controle. Macrófagos ativados com citoplasma bastante vacuolizado, alguns deles contendo grânulos intracitoplasmáticos e uma grande quantidade de eritrócitos foi observada em esfregaços da maioria dos animais inoculados ao contrário dos esfregaços do grupo controle, que em sua maior parte apresentou apenas células macrofágicas de citoplasma vacuolizado e raros eritrócitos. Os valores apresentados na tabela 2 revelam que a contagem total e diferencial de leucócitos variou tanto entre as estirpes como também entre os indivíduos de um mesmo grupo. De modo semelhante ao descrito em cavalos em experimentos de inoculação com EHV-1 [7], na contagem diferencial no LBA notou-se nos hamsters infectados apresentaram um aumento no número de neutrófilos acompanhado de um decréscimo de macrófagos, enquanto no grupo controle a célula predominante foi o macrófago variando de 90 a 100% da contagem total dos leucócitos como observado na tabela 2. Os grupos de hamsters infectados por A3/97 e A4/72 apresentaram um aumento significativo ($p < 0,01$) de neutrófilos, porém, apenas o grupo infectado por A3/97 apresentou uma diminuição significativa de macrófagos

($p < 0,01$) enquanto o grupo infectado por A4/72 apresentou uma diminuição significativa ($p < 0,05$), quando ambos foram comparados ao grupo controle. Os hamsters infectados por ISO/72 apresentaram um aumento significativo de neutrófilos e uma diminuição significativa de macrófagos. Entretanto, os hamsters inoculados por A9/92 apresentam um aumento não significativo ($p > 0,05$) de neutrófilos e uma diminuição não significativa de macrófagos. A diferença encontrada nos números de linfócitos e monócitos entre os grupos inoculados e o grupo controle não foi significativa.

Gráfico 1 - Comparação de peso entre os grupos de hamsters inoculados estirpes do herpesvirus equino do tipo I e o grupo controle desde a inoculação até eutanásia

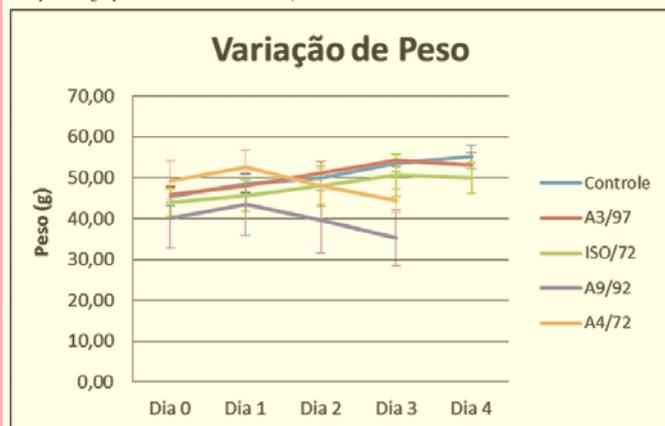


Tabela 1 - Isolamento das estirpes do EHV-1 em Sistema Nervoso Central (SNC), pulmões, fígado, timo e baço coletados após eutanásia ou morte súbita dos hamster infectados

Estirpes	ISOLAMENTO VIRAL DO EHV-1					Dia da Coleta
	SNC	Pulmões	Fígado	Baço	Timo	
A3/97	5/5	0/5	4/5	2/5	0/5	4º dpi
ISO/72	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	4º dpi
A9/92	5/5	5/5	5/5	5/5	1/5	3º dpi
A4/72	5/5	5/5	2/5	3/5	3/5	3º dpi

Tabela 2 - Média e desvio padrão da contagem de leucócitos total e diferencial no lavado broncoalveolar de hamsters do grupo controle e dos grupos experimentais inoculados por via intranasal com o EHV-1. Entre parênteses encontram-se os valores mínimos e máximos observados em cada grupo

Estirpes virais	Contagem Diferencial (%)			Contagem Total
	Macrófago	Neutrófilo	Linfócito	Células/mL
Controle	98 ± 4 (90-100)	0 ± 1 (0-1)	2 ± 4 (0-10)	128 ± 42 (92-193)
A3/97	61 ± 24 (21-92)	23 ± 20 (2-59)	10 ± 12 (0-34)	170 ± 90 (93-330)
A9/92	95 ± 4 (87-100)	2 ± 2 (0-5)	1 ± 2 (0-6)	119 ± 47 (53-200)
ISO/72	63 ± 24 (35-94)	32 ± 18 (6-47)	5 ± 9 (0-18)	193 ± 28 (175-225)
A4/72	71 ± 20 (37-99)	27 ± 23 (0-69)	2 ± 3 (0-7)	215 ± 227 (53-690)

Conclusão: Os sintomas e os sinais clínicos observados durante o experimento indicaram que o hamster é a espécie mais susceptível frente à infecção causada pelo EHV-1, quando comparada ao modelo murino. Além disso, notou-se que a resposta dos macrófagos alveolares do hamster frente à infecção pelo EHV-1 foi similar a do equino, o que torna a espécie um atrativo modelo experimental para posteriores estudos com o agente viral.

Agradecimentos: O presente estudo teve auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

Referências

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONELLY, W. J.; LEONARD, F. C. *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*. Porto Alegre: Artmed, 2005. 512p.

MORI, E. *Infecção experimental em cavalos pelo herpesvirus equino tipo 1: aspectos clínicos e detecção do agente pela reação em cadeia pela polimerase*. 2005. 159 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

TSUJIMURA K., YAMANAKA T., KONDO T., FUKUSHI H., MATSUMURA T. Pathogenicity and immunogenicity of equine herpesvirus type 1 mutants defective in either gI or gE gene in murine and hamster models. *Journal of Veterinary Medicine and Science*. V. 68, n. 10, p. 1029-1038, 2006.

MORI, C.M.C.; MORI, E.; FAVARO, L.L.; SANTOS, C.R.; LARA, M.C.C.S.; VILLALOBOS, E.M.C.; CUNHA, E.M.S.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; MAIORKA, P.C. Equid herpesvirus type-1 exhibits neurotropism and neurovirulence in a mouse model. *Journal of Comparative Pathology*, v. 146, n. 2-3, p. 202-210, 2012.

EL-HABASHI, N.; EL-NAHASS, E.; FUKUSHI, H.; NAYEL, M.; HIBI, D.; SAKAI, H.; YANAI, T. Effects of equine herpesvirus-9 infection in pregnant mice and hamsters. *Journal of Comparative Pathology*, v. 144, n. 2-3, p. 103-112, 2011a.

EL-HABASHI, N.; MURAKAMI, M.; EL-NAHASS, E.; HIBI, D.; SAKAI, H.; FUKUSHI, H.; SASSEVILLE, V.; YANAI, T. Study on the infectivity of equine herpesvirus 9 (EHV-9) by different routes of inoculation in hamsters. *Veterinary Pathology*, v. 48, n. 3, p. 558-564, 2011b.

KYDD, J.H.; HANNANT, D.; MUMFORD, J.A. Residence and recruitment of leucocytes to the equine lung after EHV-1 infection. *Veterinary Immunology Immunopathology*. v. 52, n. 1-2, p. 15-26, 1996.

DETECÇÃO DE ESTIRPES VIRULENTAS DE *ARCOBACTER BUTZLERI* EM CARNES DE FRANGOS E SUÍNOS PROVENIENTES DE AÇOGUES NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO (PROJETO EM ANDAMENTO)

OLIVEIRA, M.G.X.¹, MORENO, A.M.¹, SPINDOLA, M.G.¹, GOMES, V.T.M.¹, FILSNER, P.H.L.¹, FERREIRA, T.S.P.¹, KNÖBL, T.¹

¹ FMVZ-USP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-USP (Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87 Cidade Universitária CEP 05508 270).

Introdução: *Arcobacter* spp. são bactérias Gram negativas pertencentes à família Campylobacteraceae que possuem características distintas em sua forma de multiplicação, uma vez que apresentam temperatura de crescimento ótima a 30°C de 24h às 48h em microaerofilia ou aerobiose [1]. Até o presente momento, foram descritas dezessete espécies de *Arcobacter* isoladas de diferentes origens, contudo apenas as espécies *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* e *A. skirrowii* são consideradas zoonoses, representando um grupo de agentes patogênicos causadores de toxi-infecções alimentares em seres humanos [2]. A presença deste patógeno em produtos de origem animal representa um risco à saúde dos consumidores, sendo uma preocupação para o setor de produção. Apesar dos mecanismos de patogenicidade do *Arcobacter* spp. e de seus fatores de virulência serem pouco conhecidos, alguns autores consideram como importantes a produção de alfa hemolisinas [3], a produção de toxinas e a capacidade de invasão em culturas celulares HEP-2 [4, 5, 6]. Atualmente o Brasil é o maior exportador mundial de carne de frango [7] e quarto produtor e exportador de carne suína [8]. Para manter a taxa de crescimento e valorização, os setores de produção devem estar atentos ao aumento das exigências dos consumidores externos, em vários quesitos, dentre os quais se destacam a qualidade sanitária dos plantéis e a segurança dos alimentos de origem animal [9, 10]. O presente foi delineado para investigar a presença de bactérias do gênero *Arcobacter* em recortes de carnes de aves e suínos comercializadas no Município de São Paulo; bem como de identificar a espécie *A. butzleri* e determinar a presença de fatores de virulência nas estirpes isoladas, com o emprego da reação em cadeia pela polimerase. **Material e métodos:** Foram coletados 300 cortes de peito, asa, coxa e sobrecoxa de carne de frango e 300 de costela, lombo, bisteca e pernil de carne de suínos procedentes de mercados municipais e açougues de São Paulo. As amostras foram transportadas até o laboratório sob-refrigeração e processadas no mesmo dia da coleta. Para controle de qualidade dos meios e da reação em cadeia pela polimerase foram utilizadas estirpes de referência *A. butzleri* ATCC 49616, *A. cryaerophilus* ATCC