

($p < 0,01$) 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

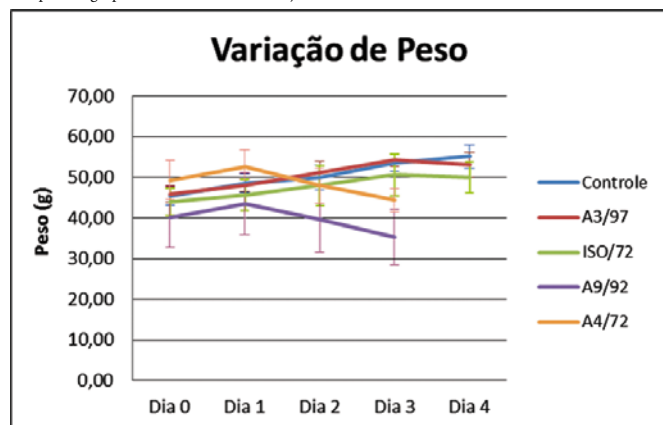


Tabela 1 - Isolamento das estirpes do EHV-1 em Sistema Nervoso Central (SNC), pulmões, fígado, timo e baço coletados após eutanásia ou morte súbita dos hamster infectados

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

43158 e *A. skirrowii* ATCC 51132. Os cortes foram pesados e amostras de 25g de carne foram acondicionadas em bolsas esterilizadas contendo 225 mL de água peptonada tamponada que foram posteriormente homogenizadas por 1min em *stomacher*. Uma alíquota de 1 mL da água peptonada foi semeada em 9 mL no caldo de enriquecimento seletivo descrito por [11] e os tubos foram incubados em aerobiose por 48h a 30°C. Após o período de incubação uma alíquota de 10µL do caldo foi depositada sobre uma membrana estéril de celulose (0,45µm) colocada na superfície do ágar seletivo JM. Após uma hora, o filtro foi retirado e a placa de ágar foi estriada e incubada por 48 a 72h a 30°C. Colônias pequenas, típicas, não hemolíticas foram submetidas à coloração de Gram e à identificação com a reação em cadeia pela polimerase (PCR) e estocadas a -80°C. Os primers descritos por [12] foram utilizados para a caracterização do *Arcobacter* spp. e do *A. butzleri*. A PCR foi realizada utilizando-se 5 µL do DNA bacteriano, 1,5 mM de MgCl₂, 10 pmoles de cada *primer*, 1,0 U de *Taq* DNA polimerase, 1 X tampão de PCR e água até o volume final de 50 µL. A reação foi submetida à desnaturação à 94° C por quatro minutos seguido por 35 ciclos de um minuto à 94°C, um minuto à 55°C e um minuto à 72°C. Foi realizada a pesquisa de nove genes de virulência, com a utilização dos pares de *primers* descritos por [13]: *ciaB*, *cj1349*, *cadF*, *irgA*, *hecA*, *hecB*, *mvnN*, *pldA* e *tlyA*. **Resultados:** Até o momento, foram examinados 115/300 cortes de carne de suínos e 105/300 de carne de frangos, a presença de *Arcobacter* spp. foi confirmada em 10,4% (12/115) de amostras de carne de suínos e 4,7% (5/105) de carne de aves. Desta triagem foram obtidas 5/12 (41,6%) e 4/5 (80%) estirpes positivas para *Arcobacter butzleri*, provenientes, respectivamente, dos cortes de suínos e aves. Considera-se relevante a detecção do agente nos produtos de origem animal, uma vez que se trata de um patógeno emergente e com caráter zoonótico [14]. Os genes de virulência *pldA*, *cadF*, *ciaB* e *cj 1349*, estiveram presentes em 100% dos isolados de origem suína e aviária. Apesar da virulência de *Arcobacter* spp. ser pouco elucidada, a sua capacidade de adesão e invasão são consideradas fundamentais na patogenicidade do agente [15]. Estudos [16] levantam a hipótese da ação hemolítica do agente no organismo, intensificada pela presença do gene estrutural *pldA* codificador da membrana de fosfolipase A. Os genes pesquisados neste estudo estão associados aos fatores encontrados em estirpes provenientes de humanos de diversas origens do mundo, como é destacado no trabalho realizado por [17], que descreve a presença de *Arcobacter butzleri*, *A. cryaerophilus* e *A. skirrowii* em alimentos de origem animal do Sul do Iran e seis (6) fatores de virulência que conferem importância zoonótica ao patógeno. A pesquisa dos fatores de virulência encontra-se em fase de execução e novos genes devem ser pesquisados na continuidade do projeto.

Conclusão: A confirmação da presença de *Arcobacter butzleri* na fase final de comercialização de carnes de frangos e suínos em açougues no município de São Paulo, Brasil representa relevante risco a população. A falta de inocuidade de alimentos cárneos é motivo de preocupação, pois apesar de *Arcobacter* ser facilmente eliminado em temperatura de 55°C, existe o risco de contaminação cruzada com utensílios e outros produtos alimentares não cozidos. Os resultados preliminares do presente trabalho revelam a presença de estirpes com potencial patogênico conforme os fatores de virulência pesquisados. No Brasil, os isolamentos de *Arcobacter* em amostras de carcaça de frangos têm sido realizados apenas por grupos de pesquisa da região Sul do país, o que reforça a importância de novos estudos em outros estados brasileiros, com a finalidade de complementar as evidências obtidas nesta pesquisa.

Agradecimentos: À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e as agências de fomento FAPESP (2014/07837-6 e 2014/06584-7) e CAPES.

Referências

Snelling, W. J.; Matsuda, M.; Moore, J. E.; Dooley, J. S. G. 2006. Under the microscope: *Arcobacter* Letters in Applied Microbiology, 42, 7-14.

Newell, D.G. 1997. *Campylobacters, Helicobacters* and Related organisms-disease associations in pigs. The Pig Journal, 39,102.

Atabay, H. I.; Bang, D. D.; Aydin, F.; Erdogan, H. M.; Madsen, M. 2002. Discrimination of *Arcobacter butzleri* isolates by polymerase chain reactionmediated DNA fingerprinting. Letters in Applied Microbiology, 35, 141- 145.

Fernández, H.; Eller, G.; Paillacar, J.; Gajardo, T.; Riquelme, A. 1995. Toxigenic and invasive capacities: possible pathogenic mechanisms in *Arcobacter cryaerophilus*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 90, 633-634.

Villarruel-López, A.; Márquez-González, M.; Garay-Martinez, E.; Zepeda, H.; Castillo, A.; Mota, L.; Murano, E.; Torres-Vitela, R. 2003. Isolation of *Arcobacter* spp. from retail meats and cytotoxic effects of isolates against Vero Cells. Journal of Food Protection, 66, 1374-1378.

Ho, T. K. H.; Lipman, L. J. A.; Hendriks, G. C. J. M. H.; Tooten, P. C. J.; Ultee, T.; Gaastra, W. 2007. Interaction of *Arcobacter* spp. with human and porcine intestinal epithelial cells. FEMS Immunology Medicine Microbiology, 50, 51-58.

UBABEF-União Brasileira de Avicultura. Excelência Sanitária. Disponível no site: http://www.ubabef.com.br/a_avicultura_brasileira/excelencia_sanitaria. Acesso em 30 de outubro de 2013.

Souza, J.C.P.V.B.; Amaral, A.L.; Morés, N.; Treméa, S.L.; Miela, M.; Filho, J.I.S. 2013. Sistema de Produção de Leitões baseado em Planejamento, Gestão e Padrões Operacionais, Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC.

Mendes, A.S.; Moura, D.J.; Naas, I.A. Produção Industrial de perus: características e exigências. Aviste. Ciência e Tecnologia, 2011. Disponível em <http://www.aviste.com.br/cet/trabalhos.asp?codigo=71>. Acesso em 23 De março de 2014.

Marietto-Gonçalves, G.A.; Andreatti-Filho, R.L. 2010. Susceptibilidade antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de frango industrial (*Gallus gallus domesticus* - Linnaeus, 1758) com colibacilose. Arquivos do Instituto Biológico, 77, 715-718.

Johnson, L. G.; Murano, E. A.1999. Development of a new medium for the isolation of *Arcobacter* spp. Journal of Food Protection, 62, 5, 456-462.

Doudiah, L.; De Zutter, L.; Vandamme, P.; Houf, K. 2010. Identification of five human and mammal associated *Arcobacter* species by a novel multiplex-PCR assay. J. Microbiol. Methods, 80, 281-286.

Doudiah, L.; Zutter, L.; Baré, J.; De Vos, P.; Vandamme, P.; Vandenberg, O.; Abeele, A.M.V.; Houf, K. 2012. Occurrence of Putative Virulence Genes in *Arcobacter* Species Isolated from Humans and Animals. Journal of Clinical Microbiology, 50, 3, 735-741.

Ho Ht, Lipman Lj, Gaastra W. 2006. *Arcobacter*, what is known and unknown about a potential foodborne zoonotic agent! Vet. Microbiology, v.115, p.1-13.

Collado, L.; Fugueras, M.J. 2011. Taxonomy, Epidemiology and Clinical Relevance of the Genus *Arcobacter*. Clinical Microbiology Reviews, p.174-192.

Grant KA, Belandia IU, Dekker N, Richardson PT, Park SF. 1997. Molecular characterization of *pldA*, the structural gene for a phospholipase A from *Campylobacter* and *E. coli*, and its contribution to cell-associated hemolysis. Infect. Immun, 65, 1172-1180.

Tabatabaei, M.; Aski, H.S.; Shayeg, H. ; Khoshbakht, R. 2014. Occurrence of six virulence-associated genes in *Arcobacter* species isolated from various sources in Shiraz, Southern Iran. Microbial Pathogenesis, 66, 1-4.

MESTRADO - CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

A EXPOSIÇÃO DE RATOS À FUMAÇA DO CRACK EM UM NOVO DISPOSITIVO DE EXPOSIÇÃO PULMONAR RESULTA EM ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS

PONCE, F.1; KIRSTEN, T. B.1; MENDES, P. F.1; HUEZA, I. M.2

1 Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP, São Paulo;

2 Instituto de Ciências Ambientais Químicas e Farmacêuticas, UNIFESP, Campus Diadema.

Introdução: A droga de rua comercializada como *crack*, é constituída principalmente por cocaína (alcaloide tropânico com notável ação neuroestimulante) na sua forma de base livre, e atualmente vem se destacando