

9. Segal, E., Shapira, M., Regev, A., Pe'er, D., Botstein, D., Koller, D., Friedman, N., 2003. Module networks: identifying regulatory modules and their condition-specific regulators from gene expression data. *Nature Genetics*, vol. 34, no. 2, pp. 166–76.

10. Michoel, T., Maere, S., Bonnet, E., Joshi, A., Saeys, Y., Van den Bulcke, T., Van Leemput, K., van Remortel, P., Kuiper, M., Marchal, K., Van de Peer, Y., 2007. Validating module network learning algorithms using simulated data. *BMC Bioinformatics*, vol. 8 Suppl 2, no. Suppl 2, p. S5.

11. Richardson, E.C., Herd, R.M., Archer, J.A., Arthur, P.F., 2004. Metabolic differences in Angus steers divergently selected for residual feed intake. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, vol. 44, no. 5, p. 441.

12. Herd, R.M., Oddy, V.H., Richardson, E.C., 2004. Biological basis for variation in residual feed intake in beef cattle. 1. Review of potential mechanisms. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, vol. 44, no. 5, p. 423.

13. Chen, Y., Gondro, C., Quinn, K., Herd, R.M., Parnell, P.F., Vanselow, B., 2011. Global gene expression profiling reveals genes expressed differentially in cattle with high and low residual feed intake. *Animal genetics*, vol. 42, no. 5, pp. 475–90.

CATEGORIA DOUTORADO MEDICINA VETERINÁRIA

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DOS CENTROS GERMINAIS ESPLÊNICOS DE FRANGOS DE CORTES SUBMETIDOS A INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* TIPO A

CALEFI, A.S.; NAMAZU, L.B.; COSTOLA-DE-SOUZA, C.; HONDA, B.T.B.; QUINTEIRO-FILHO, W.M.; FONSECA, J.G.S.; FERREIRA, A.J.P.; PALERMO-NETO, J.

Grupo de Neuroimunomodulação – Departamento de Patologia, FMVZ/USP

Introdução: A enterite necrótica aviária (NE) é uma doença que acomete aves de produção de duas a seis semanas de vida [1]. O seu agente etiológico primário é o *Clostridium perfringens*, uma bactéria de crescimento em anaerobiose, gram positiva, toxigênica, formadora de esporos [2]. A patogênese da NE é complexa e envolve a associação de diversos fatores, como a co-infecção com espécies de coccidia, imunossupressão e estresse. O estresse é um dos principais fatores limitantes na produção de aves. Dessa forma, é preocupação não somente na NE, mas em toda cadeia de produção animal, visto que foi comprovada a sua relação com uma queda nos parâmetros zootécnicos e modulação do sistema imune [3]. Embora os efeitos do estresse sobre os níveis de imunoglobulinas sejam amplamente enfatizados, poucos são os trabalhos que se dedicam ao estudo dos centros germinais (GC). Os GCs são microambientes especializados, responsáveis pela geração de células imunes com anticorpos de alta afinidade e linfócitos B de memória [4,5]. Sendo assim, este compartimento torna-se importante alvo para elucidar os efeitos do estresse associado com doenças como a NE. O presente trabalho avaliou os efeitos do estresse por calor com e sem a associação da ingestão de caldo tioglicolato e *Clostridium perfringens*, sobre o desenvolvimento dos centros germinais no baço de frangos de corte. **Materiais e métodos:** Para realização dos experimentos foram utilizados 30 frangos de corte, Linhagem Cobb®, machos, adquiridos de incubatório comercial com um dia de vida. Os animais foram divididos em seis grupos experimentais: 1 – Grupo Controle; 2 – Grupo Controle Estressado (C/Stress); 3 – Grupo Tioglicolato (T); 4 – Grupo Tioglicolato Estressado (T/Stress); 5 – Grupo Infectado (I); 6 – Grupo Infectado Estressado (I/Stress). A infecção experimental com *Clostridium perfringens* tipo A foi efetuada pela via oral, do 15º ao 21º dia de vida nos grupos I e I/HS35. O estresse por calor (35±1°C) foi realizado por aumento da temperatura ambiente do 14º ao último dia experimental (21º dia de vida). Os

animais do grupo Tioglicolato receberam o meio de cultura caldo tioglicolato sem bactérias. As medições dos perfis dos baços foram realizadas pelo método de contagem de pontos. As fotos utilizadas para determinação da área do perfil do baço (Asp). foram tiradas em estereoscópio (Olympus SZX7 e câmera D71) O número de centros germinais por perfil do baço (Ngc) e a área dos centros germinais (Agc) foram estabelecidas com o sistema de contagem de pontos em fotografias microscópicas no aumento de 300x (Nikon Eclipse Ni-U e Nikon câmera DsRi1-U3). As mensurações foram empregadas para a determinação dos parâmetros morfométricos: Número de perfis de GCs por 1 mm² de secção do baço (Nagc); Área dos perfis de GCs nas seções do baço (Agc); A densidade de volume dos GCs no baço (Vvgc); Densidade numérica dos GCs no baço (Nvgc); Número total dos GCs no baço (Ngcsp); O diâmetro médio dos GCs (D); A distância do centro germinal mais próximo no plano de corte (Δ_2); A distância do centro germinal mais próximo no espaço (Δ_3) [6]. Os dados foram analisados por teste de análise de variância de duas vias (ANOVA) seguida do teste de Tukey-Kramer para comparações múltiplas. A análise de correlação entre todos os parâmetros morfométricos e peso do baço foi determinada pelo produto-momento de Pearson. A correlação pode ser classificada como de intensidade elevada (0,7-1,0), intensidade média (0,5 a 0,7), e de intensidade baixa (0,1 – 0,5). **Resultados:** Os resultados da avaliação morfométrica estão resumidos na tabela 1. A média de Nagc dos animais do grupo I/Stress foi 60% inferior à do grupo I (P < 0,05). De forma semelhante a média de Vvgc no grupo I/Stress é 47% inferior à do grupo I (P > 0,05). Os resultados são comparáveis quando é observada a redução das médias do Nvgc e Ngcsp dos animais estressados e infectados (I/Stress) em comparação aos dos animais do grupo infectado (I; P> 0,05). O estresse por calor *per se* não foi capaz de produzir as diferenças significativas encontradas nos parâmetros Nagc, Vvgc, Nvgc, Ngcsp, D, Δ_2 e Δ_3 entre os animais dos diferentes grupos sem considerar os desafios (tioglicolato e bactéria). No entanto foi constatada interação entre os fatores estresse por calor e tratamentos (tioglicolato e infecção) em relação ao Nagc (P<0,01), Ngcsp (P<0,05) e Nvgc (P<0,05). As diferenças dos parâmetros morfométricos entre os animais com diferentes desafios empregados, foram estatisticamente significantes sem considerar o estresse por calor. Os resultados do produto-momento de Pearson dos fatores Nagc, Vvgc, Nvgc, Ngcsp, D, Δ_2 e Δ_3 em relação ao peso total do baço apresentaram resultados inferiores a 0,2.

Tabela 1 – Média ± desvio padrão dos parâmetros morfométricos analisados no baço.

Group	Peso do Baço (mg)	Nagc (mm ⁻²)	Vvgc (mm ³ /mm ²)	Nvgc (mm ⁻²)	Ngcsp (mm ²)	D (mm)	(mm)	(mm)
C	579 ^a	0,626 ^a	0,00225 ^a	11,16 ^a	1298 ^{ab}	0,075 ^a	0,750 ^a	0,294 ^a
	151	0,393	0,00208	16,22	2092	0,026	0,286	0,082
C/Stress	428 ^a	0,546 ^{ab}	0,00181 ^a	8,93 ^a	600 ^a	0,082 ^a	0,750 ^{ab}	0,307 ^a
	129	0,223	0,00104	5,25	397	0,042	0,259	0,114
T	483 ^a	1,056 ^{ab}	0,00328 ^a	16,98 ^a	1564 ^{ab}	0,071 ^a	0,513 ^b	0,227 ^{ab}
	116	0,449	0,00269	8,13	881	0,023	0,092	0,038
T/Stress	479 ^a	1,540 ^b	0,00349 ^a	25,84 ^a	2539 ^b	0,059 ^a	0,610 ^{ab}	0,231 ^{ab}
	76	2,563	0,00559	43,05	4355	0,066	0,6187	0,226
I	417 ^a	1,49 ^b	0,00479 ^a	23,00a	1292 ^a	0,064 ^a	0,507 ^b	0,213 ^{ab}
	194	1,622	0,00609	27,97	1904	0,035	0,377	0,131
I/Stress	445 ^a	0,624 ^{ab}	0,00254 ^a	10,64 ^a	829 ^{ab}	0,058 ^a	0,427 ^b	0,186 ^b
	186	0,476	0,00298	10,82	763	0,047	0,278	0,124

Letras diferentes em expoente indicam diferenças significativas, em P < 0,05 (ANOVA de duas vias seguido de teste de Tukey-Kramer para comparações múltiplas).

Conclusões: O estresse por calor aplicado de forma isolada não é capaz de desencadear alterações sensíveis nos parâmetros morfométricos analisados. Entretanto a associação dos estresse por calor e a ingestão do caldo tioglicolato e/ou infecção experimental desencadeiam alterações significativas no número de centros germinais, tanto no plano bidimensional (Nagc e Vvgc) quanto nas projeções tridimensionais (Ngcsp e Nvgc). A infecção por *C. perfringens* associada ao estresse por calor reduz a formação dos centros germinais esplênicos de frangos de corte sem interferir no diâmetro dos centros germinais e distância entre os mesmos nas projeções bidimensionais e tridimensionais.

As correlações entre os achados demonstrou que não podem ser efetuadas inferências quanto ao número, tamanho e distribuição dos centros germinais esplênicos apenas com o emprego do peso total do baço, e por consequência, o tamanho do órgão. Os desvios padrão encontrados foram compatíveis com os dados da literatura, o que indica uma grande variação biológica dentro do normal [5]. Entretanto, mesmo com tais desvios houve diferenças entre os grupos. Demonstrando que a sensibilidade do método o classifica como importante instrumento para a análise dos compartimentos esplênicos de frangos de corte. **Agradecimentos:** A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (nº 2009/51886-3; nº 2012/03103-2, nº 2013/17408-2) e ao CNPq (nº 470776/2009-9) pelo suporte financeiro, que permitiu a execução deste estudo. A profa. Lilian Rose Marques de Sá e Maria Lúcia Zaidan Dagli pela utilização dos sistemas de imagem. **Notas informativas:** Projeto aprovado pela Comissão de Ética do Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (Nº 2570/2012).

Referências Bibliográficas

1. PARISH, W. E. Necrotic enteritis in the fowl (*Gallus gallus domesticus*). I. Histopathology of the disease and isolation of a strain of *Clostridium welchii*. *Journal of Comparative Pathology*, v. 71, p. 377-393, 1961.
2. DAHIYA, J. P. et al. Potential strategies for controlling necrotic enteritis in broiler chickens in post-antibiotic era. *Animal Feed Science and Technology*, v. 129, n. 1-2, p. 60-88, ago. 2006.
3. MASHALY, M. M. et al. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poultry Science*, v. 83, n. 6, p. 889-894, 2004.
4. RAHMAN ZS et al. Impaired apoptotic cell clearance in the germinal center by Mer-deficient tingible body macrophages leads to enhanced antibody-forming cell and germinal center responses. *Journal of Immunology*. V. 153:185(10):5859-68, 2010.
5. YASUDA, M et al. Immunobiology of chicken germinal center: I. Changes in surface Ig class expression in the chicken splenic germinal center after antigenic stimulation. *Developmental & Comparative Immunology*, v. 27, n. 2, p. 159-166, 2003.
6. ROMPPANEN, T. A morphometrical method for analyzing germinal centers in the chicken spleen. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section C Immunology*, 89C: 263-268, 1981.

ASPECTOS MACROSCÓPICOS DE LESÕES EM UM CÃO CAUSADAS POR ACINETOBACTER: RELATO DE UM CASO

SILVA, M.V.M.¹; GUIMARÃES, K.O.P.¹; AGOPIAN, R.G.¹; CRUZ, G.D.²

¹Setor de Cirurgia, Departamento de Anatomia dos Animais Domésticos e Selvagens, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP)

² Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Santo Amaro (UNISA)

Resumo: Nos últimos 15 anos a preocupação dos médicos e microbiologistas vem crescendo em relação às bactérias do gênero *Acinetobacter*, devido à sua notável capacidade de causar infecções em indivíduos imunocomprometidos, e de adquirir rapidamente resistência às drogas. Seu papel em infecções nosocomiais em humanos é amplamente analisado e reportado. Embora também ocorram casos de infecção por *Acinetobacter* sp. em animais, estes ainda são pouco relatados e estudados. O presente trabalho salienta a importância do conhecimento dos veterinários sobre a ação dessa bactéria, para que apliquem o tratamento mais eficaz de acordo com a estirpe encontrada, com base em seus mecanismos de resistência. **Introdução:**

Acinetobacter sp. é um bacilo gram-negativo, encontrado na água e no solo, que acomete indivíduos imunocomprometidos. Trata-se de um patógeno oportunista, que é atribuído, sobretudo, a casos de infecções nosocomiais [1, 2]. Em medicina veterinária foi detectada em cães, gatos, cavalos e pássaros selvagens. Acomete principalmente o sistema respiratório, trato urinário, e tecido cutâneo. Promove adesão em células epiteliais, causando

a sua apoptose. Além disso, possui mecanismos de resistência intrínsecos e adquiridos que a torna multiresistente as drogas, o que dificulta o tratamento da doença, que tem curso fulminante [3]. O objetivo deste trabalho foi descrever as características das lesões causadas por *Acinetobacter* sp. em cão e enfatizar a importância do conhecimento sobre a mesma.

Relato de Caso: Um cão, macho, SRD, oito anos, deu entrada no HOVET-UNISA com histórico de arranhadura por felino há dois dias. O animal apresentou prostração, hiporexia, claudicação e edema de membro torácico direito algumas horas após o incidente. Durante o exame físico foi constatado aumento de linfonodo cervical superficial direito. No membro afetado foi observado acentuada sensibilidade, edema, discreta secreção serosanguinolenta à punção e uma pequena área de necrose.



Figura 1 – Canino em atendimento. No segundo dia de atendimento foi coletado material para exame microbiológico, que posteriormente culminou com o crescimento da *Acinetobacter* sp.

O quadro do animal agravou-se rapidamente nas 48 horas seguintes, com progressão intensa da necrose por toda região subcutânea/muscular de membro, tórax e pescoço, hipotensão severa não responsiva à drogas vasoativas, hipotermia, hiperalgesia e quadro séptico.

No terceiro dia optou-se pela eutanásia do animal.



Figura 2 – Cão após eutanásia.

Quanto ao exame necroscópico, foi observada severa hemorragia e edema em tecido subcutâneo, difuso, acometendo desde região cervical ventral até região inicial de abdômen ventral, além de membros torácicos. Internamente, baço, pulmão, rins e bexiga apresentaram também graves alterações macroscópicas condizentes com processo hemorrágico.