

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* spp. **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. **Material 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 CORTE SUBMETIDOS 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

210 dia de vida os animais do grupo estressado por calor foram submetidos ao aumento da temperatura ambiental a 37°C em intervalos de 12 horas. No 210 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 doentio 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 doentio 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 1×10^{-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 TNF. 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-PCR 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 conseguiu detectar e quantificar partículas virais em diluições contendo 1010 até 101 copias 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