

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 imunistoquímica (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 PGMTM 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, NATALIA 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; GÓRNIK, 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 QUITRIDIOSIS 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 quitridiomiose. 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