

CIÊNCIAS AGRÁRIAS

REVISTA PIBIC 2019





Grande área do conhecimento Ciências Agrárias

Título do Projeto Prevalência de *Cryptosporidium* spp em Animais da Classe Reptilia oriundos do Zoológico do Rio de Janeiro

Autores Eduardo Burgarelli e Beatriz Brener

Departamento/Unidade/Laboratório Departamento de Microbiologia e Parasitologia (MIP), Instituto Biomédico, UFF

INTRODUÇÃO: A Classe Reptilia possui cerca de 6000 espécies representadas em todo o mundo, divididas em 2 Subclasses e 4 Ordens. A Subclasse Diapsida engloba a Ordem Crocodylia, representada por crocodilos e jacarés, e a Ordem Squamata, representada por lagartos e serpentes. Esses animais podem ser acometidos por diversas espécies de parasitos de diferentes grupos, como cestódeos, hemoprotozoários, coccídeos, ectoparasitos, dentre outros. A criptosporidiose é uma coccidiose causada pelo protozoário do gênero *Cryptosporidium* que pode acometer diversos hospedeiros de diferentes Classes, como peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos, incluindo humanos. Os relatos da infecção em répteis são principalmente em serpentes e lagartos e, assim como na maioria dos outros hospedeiros, o protozoário é responsável por causar alterações gastrointestinais, cujo principal sinal clínico, quando presente, é a diarreia. A doença pode se manifestar de duas maneiras: de caráter clínico, ocasionando gastrite, enterite e gastroenterite, ou de caráter subclínico, no qual o animal infectado representa importante papel como carreador de oocistos para o ambiente. As espécies consideradas patogênicas para essa Classe de animais são *C. serpentis*, que habitam preferencialmente a região do estômago e *C. varanii*, que habitam região do intestino, ambas responsáveis pela infecção em serpentes e lagartos. Não se conhece nenhum fármaco comprovadamente eficaz no tratamento da criptosporidiose, sendo o controle das formas ambientais a medida mais importante num contexto profilático. Em outubro de 2018 foram coletadas 36 amostras de lavado cloacal e gástrico de diferentes grupos de répteis oriundos do Zoológico do Rio de Janeiro, sendo

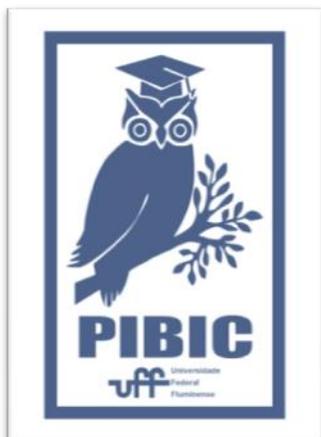
21 serpentes, 14 jacarés e 1 lagarto. Para detecção de antígenos de *Cryptosporidium* spp. nessas amostras foi realizado ensaio Imuno enzimático (Elisa) (IVD-Research Inc, USA) no Laboratório de Imunodiagnóstico da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-RJ).

RESULTADOS E DISCUSSÕES: Dos 36 animais, dois se apresentaram positivos ao exame (5,5%), indicando a presença do protozoário nas amostras oriundas de duas serpentes da espécie *Python regius*. Ambos os animais se apresentavam aparentemente saudáveis, sem sinais clínicos visíveis. Tratamento com Halofuginona e Espiramicina em serpentes apresentou redução de oocistos excretados nas fezes pelos animais, entretanto não promoveu a cura da infecção. Além disso, Halofuginona foi responsável por causar hepatotoxicidade e nefrotoxicidade nos animais que já se apresentavam debilitados pela infecção crônica. Até o momento nenhuma terapia foi instituída aos animais diagnosticados, entretanto foi sugerido o isolamento dos indivíduos evitando o risco de disseminação da protozoose. Segundo a descrição do fabricante do Elisa, o produto é feito para detecção de antígenos de *Cryptosporidium* que infectam humanos, o que pode ter gerado falsos negativos nos resultados da pesquisa, mesmo que o diagnóstico imunológico seja a nível de gênero e não espécie. Além disso, existe a possibilidade de falsos positivos, devido à carreação mecânica de oocistos de ratos e camundongos dados como alimento às serpentes e que passam momentaneamente pelo trato gastrointestinal desses animais sem causar infecção. Estudos através da biologia molecular e detecção do protozoário a nível de

espécie seriam capazes de elucidar melhor as dúvidas geradas pelo diagnóstico imunológico.

CONCLUSÕES: Apesar dos vários relatos do parasitismo por *Cryptosporidium* nas espécies de répteis, ainda há uma carência de informações quanto à epidemiologia da infecção em animais de vida livre e cativeiro pertencentes à classe. No ambiente cativeiro fatores como manutenção e transmissão da protozoose ainda precisam ser mais claramente elucidados, sendo necessária a realização de estudos com os hospedeiros e os recintos onde habitam. Sabe-se que o ambiente cativeiro favorece a infecção e ao aparecimento dos sinais clínicos, principalmente quando os animais são submetidos à exposição e ao estresse acima do natural. Por ser, geralmente, uma doença de curso crônico em répteis, as lesões podem não ser tão evidentes e não serem notadas. Além disso, o manejo desses animais é feito de forma menos recorrente, pois são animais que levam um maior intervalo de tempo para se alimentarem, o que diminui as chances de visualizar alguma alteração. Tendo isso em vista, o diagnóstico da criptosporidiose em répteis de cativeiro demonstra importância, pois além de contribuir para dados epidemiológicos a cerca da infecção, permite uma intervenção terapêutica e profilática precoce com maiores chances de sucesso no controle da enfermidade e recuperação dos animais infectados.

Agradecimentos: À Universidade Federal Fluminense e à querida orientadora Dr^a Beatriz Brener, pelo suporte, apoio e confiança, pelas correções e incentivos. Ao Zoológico do Rio de Janeiro – RioZoo e todos os veterinários, biólogos e funcionários que participaram e ajudaram nas atividades. À Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-RJ) e a Dr^a Fernanda Santos por realizar os exames propostos pela pesquisa.





CIÊNCIAS AGRÁRIAS AVALIAÇÃO DO PROTOCOLO DE TRANSPOSIÇÃO E DILATAÇÃO CERVICAL EM RECEPTORAS PARA PROGRAMAS DE MÚLTIPLA OVULAÇÃO E TRANSFERÊNCIAS DE EMBRIÕES (MOTE) EM OVINOS

Fernanda Martins Gonçalves; Vanessa Moreira Barbosa dos Santos; Juliana Dantas Rodrigues; Ana Luiza Cunha

Bade; Mario Felipe Alvarez Balaro; Felipe Zandonadi Brandão.

Faculdade de Veterinária

Departamento de Patologia e Clínica veterinária (MCV)

Setor de Reprodução Animal

INTRODUÇÃO:

O desenvolvimento e aprimoramento de técnicas reprodutivas têm avançado nas últimas décadas. A coleta e transferência de embriões é hoje uma realidade em diversas espécies, cada vez com melhores resultados. Em pequenos ruminantes, diferentemente do que ocorre em bovinos, há maiores dificuldades na execução de determinados procedimentos (FONSECA; OLIVEIRA; VIANA, 2011). A inovulação embrionária em bovinos, a exemplo da coleta de embriões nesta espécie, passou de totalmente cirúrgica para totalmente não cirúrgica. Todavia em pequenos ruminantes, muito em função do tamanho relativamente menor do animal e da dificuldade de acesso interno por palpação transretal, isso permanece como um dos maiores desafios. A anatomia da cérvix da ovelha, com seu lúmen estreito e anéis excêntricos impossibilita a realização destes procedimentos via transcervical levando ao uso de técnicas muito mais invasivas e onerosas como inseminação artificial (IA) via laparoscopia e a transferência de embriões (TE) via laparotomia (CANDAPPA e BARTLEWSKY 2011). A proposta do presente estudo é avaliar o efeito de protocolos hormonais de transposição e dilatação cervical em

receptoras ovinas para programas de MOTE. O intuito é desenvolver uma técnica de transferência de embriões ovinos pela via transcervical, alternativa a atual via cirúrgica, e assim aumentar a sua aplicabilidade a campo, validando um método rápido e menos custoso em programas de MOTE na espécie ovina.

METODOLOGIA, RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram utilizadas 25 ovelhas adultas da raça Santa Inês mantidas na Unidade de Pesquisa Experimental em Caprinos e ovinos localizada na FECM - UFF. Foi feito um delineamento cross-over, sendo os animais divididos em três grupos experimentais, sendo: G_{controle} o grupo controle, $G_{\text{ocitocina}}$ os animais que receberam ocitocina e o $G_{\text{ocitocina+E2}}$, em que os animais receberam benzoato de estradiol e ocitocina antes das tentativas de passagem. O Protocolo hormonal de indução do estro sincronizado foi realizado de acordo com o preconizado por Balaro et al. (2015) para sincronizar os animais no mesmo dia do ciclo estral (D7) mimetizando o momento da coleta de embriões na espécie ovina. Doze horas antes da transposição cervical, foi realizada a aplicação do tratamento de cada grupo. No

G_{controle} foi administrado 5,1mL de solução salina IV, assim como no $G_{\text{ocitocina}}$. No $G_{\text{ocitocina+E2}}$ foi administrada 100 mg benzoato de estradiol IV diluído com 2,5mL de álcool absoluto e 2,5mL de solução salina. Precedendo em 15 minutos o teste de transposição cervical, o G_{controle} recebeu 10mL de solução salina IV. Já o $G_{\text{ocitocina}}$ e $G_{\text{ocitocina+E2}}$ receberam 100 UI de ocitocina IV 15 minutos antes da realização do teste de transposição cervical. Para o teste de transposição cervical, os animais foram sedados com acepromazina (0,1 mg/kg) e diazepam (0,2 mg/kg) IV. Na sequência, foi efetuada anestesia epidural com cloridrato de cetamina 10% (2,0 mg/kg). Depois da localização da cérvix com espécuro, a cérvix foi fixada com pinça de Allis e exteriorizada utilizando tração caudal com duas pinças de Pozzi. Foram realizadas três tentativas de transposição de cérvix com inserção da Vela de Hegar, com a duração máxima de 5 minutos para cada tentativa, e intervalos de 10, 20 ou 40 minutos após anestesia epidural. Os animais passaram por exames ultrassonográficos transretais (modo-B e Doppler Colorido) visando o acompanhamento da dinâmica luteal conforme descrito previamente (SIMÕES et al., 2007; ARASHIRO et al., 2018). Em ambos os experimentos, as avaliações foram realizadas nos seguintes tempos: t0h (antes da administração do protocolo, 12h antes da tentativa de transposição cervical), t24h, t48h, t72h, t96h, t120h e t144h. Coletas de sangue para avaliação de progesterona (P4) sérica aconteceram nos momentos 0h (antes da administração dos tratamentos) e depois a cada 6h até completar 36h da realização das tentativas e posteriormente em 48h, 72h, 96h, 120h e 144h. As análises hormonais foram realizadas pela técnica de radioimunoensaio. Houve diferença significativa entre a taxa de transposição cervical do $G_{\text{ocitocina+E2}}$ e G_{controle} , (88% vs. 64%; $P < 0,05$). Já o $G_{\text{ocitocina}}$ não diferiu entre os outros dois grupos experimentais (84% = 88% e 64%; $P > 0,05$). A frequência de CLs vascularizados ou não e as concentrações

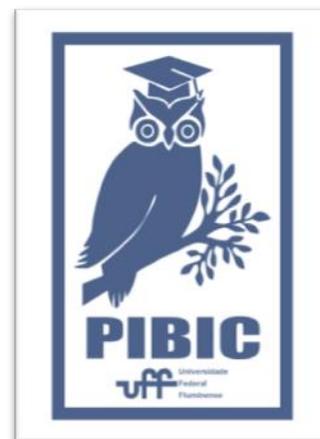
de P4 séricas também não diferiram ao longo do tempo entre os grupos experimentais. O estradiol associado a ocitocina foram eficazes na promoção do dilatamento cervical, demonstrando maior taxa de passagem no teste de transposição cervical quando comparado ao grupo controle. Ainda, além de promoverem o relaxamento cervical, os protocolos testados não interferiram nos níveis de progesterona endógena e não levaram à regressão prematura do corpo lúteo demonstrando segurança em seu uso.

CONCLUSÕES:

Pode-se concluir que, tanto o protocolo utilizado para o grupo $G_{\text{ocitocina}}$ quanto para o $G_{\text{ocitocina+E2}}$ são eficazes para realizar a dilatação cervical em ovelhas da raça Santa Inês, visto que obtiveram taxas de transposição cervical semelhantes. Tal resultado, associado a manutenção posterior da atividade luteal, possibilita a difusão de uma técnica menos invasiva para a transferência de embrião, pela via transcervical, em vez do método cirúrgico.

Agradecimentos:

Faperj e CNPq.





Ciências Agrárias – Medicina Veterinária

Desenvolvimento de Estratégia visando à coleta não cirúrgica de embriões em ovelhas

Ana Luiza Cunha Bade, Mário Alvarez Balaro, Juliana Dantas Rodrigues dos Santos, Felipe Zandonadi Brandão

Departamento de Patologia e Clínica Veterinária/ Faculdade de Veterinária / Setor de Reprodução Animal

INTRODUÇÃO:

O incentivo de novas tecnologias da reprodução nos animais de produção se torna necessário pelo contínuo crescimento da população e consequentemente contínua procura por alimentos de proteína animal. A procura por alimentos de origem animal com qualidade e quantidade reflete no campo para um trabalho mais eficiente com os rebanhos.

O desenvolvimento de técnicas não cirúrgicas se torna importante quando as técnicas cirúrgicas apresentam dificuldades para seu desenvolvimento a campo, riscos pós-cirúrgicos, custos, procedimento mais invasivo, uso de anestesia geral e maior impacto ao bem-estar das ovelhas. O desenvolvimento de técnicas não cirúrgicas contribui para uma tecnologia com melhor aplicabilidade e maior uso a campo na medicina veterinária no âmbito da reprodução, assim como visto em bovinos e mais atualmente em caprinos.

A proposta do presente estudo foi formar bases técnicas com o intuito de desenvolver uma solução para o gargalo mais importante na técnica de produção in vivo de embriões e dessa forma atingir sua aplicação a campo, acrescentando um método rápido de melhoramento no potencial genético dos animais.

O presente estudo teve como objetivo desenvolver um método de avaliação prévia da cérvix como um meio de escolha para a metodologia de colheita de embriões a ser realizada. Ademais, classificar a eficácia do método não cirúrgico de coleta de embriões com

base nos cálculos das taxas de recuperação embrionária.

METODOLOGIA:

O presente estudo foi autorizado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da UFF (protocolo #699/2015).

O experimento foi realizado na Unidade de Pesquisa Experimental em Caprinos e Ovinos, UniPECO, com sede na Fazenda Escola da Faculdade de Veterinária localizada em Cachoeiras de Macacu. Foram utilizadas 50 ovelhas da raça Santa Inês como doadoras de embriões.

Foram feitas tentativas de passagem na cérvix com uma vela de Hegar em dois momentos, sendo uma no momento do estro do cio base e a segunda tentativa no momento da coleta dos embriões após a realização da superovulação.

O cio base das cinquenta ovelhas da raça Santa Inês foram sincronizadas a partir do uso do protocolo descrito por Cavalcanti et al (2012), no qual é introduzida uma esponja vaginal contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona e mantida por 6 dias. Um tempo de 24 horas antes da retirada dessa esponja foram administrados 300 UI de gonadotrofina coriônica equina por via intramuscular e 0,0375 mg de cloprosterol, também por via intramuscular. Além disso, os animais receberam ainda 0,025 mg de GnRH por via intramuscular após 12 horas do recolhimento da esponja de progestágeno e desse modo uma maior sincronização do cio base. O tratamento superovulatório foi realizado

60 horas após o fim do protocolo de sincronização do cio base e nele foi utilizado 5 UI/kg de FSHp por via intramuscular em doses decrescentes (25%/25%, 15%/15% e 10%/10%) a cada 12 horas.

Na administração da primeira dose de FHSp foi inserida uma nova esponja vaginal também contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona. Na administração da quinta dose de FHSp os ovinos receberam 0,0375 mg de cloprostenol pela via intramuscular e enfim recolhimento da segunda esponja. As ovelhas quando na realização das tentativas de passagem da cérvix no estro base e no momento da coleta dos embriões (sete dias após a realização da superovulação) foram sedadas com acepromazina 0,1 mg.kg⁻¹ e diazepam 0,2 mg.kg⁻¹ associados no mesmo recipiente de aplicação, na mesma seringa e aplicados por via intravenosa. Após isso, essas fêmeas sofreram uma anestesia epidural. Posteriormente foram realizadas tentativas de passagem na cérvix com uma vela de Hegar considerando três tentativas como suficientes.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram considerados positivo quando o dilatador de Hegar foi introduzido com sucesso pela cervix dentro de três tentativas. O resultado foi considerado negativo quando a introdução do dilatador de Hegar não era introduzido com sucesso. Os resultados do primeiro teste (realizado no momento do estro) foram comparados com os resultados do segundo teste (realizado no momento da coleta de embriões).

A qualificação se deu por:

- Verdadeiro Positivo, VP, quando as ovelhas tiveram resultado positivo nos dois testes;
- Verdadeiro Negativo, VN, quando as ovelhas tiveram resultado negativo nos dois testes;
- Falso Positivo, FP, quando as ovelhas tiveram resultado positivo no primeiro teste e negativo no segundo teste;
- Falso Negativo, FN, quando as ovelhas tiveram resultado negativo no primeiro teste e positivo no segundo teste;

Foram calculados os seguintes itens: sensibilidade ($SENS=VP/(VP+FN)$), especificidade ($SPEC=VN/(FN+VN)$), valor preditivo positivo ($VPP=VP/(VP+FP)$) e valor

preditivo negativo ($VPN=VN/(FN + VN)$), acurácia ($Ac=(VP + VN)/n$), e índice Kappa (κ).

Os resultados para SENS, SPEC, VPP, VPN e Ac foram, respectivamente, 85,7; 66,6; 85,7; 66,6; e 80%. A concordância entre os dois testes foi moderada ($\kappa = 0.52$).

Em relação aos embriões, sua coleta foi feita, os dados referentes a estes foram analisados. O resultado para a taxa de recuperação de estruturas em porcentagem (%) foi de $60,5 \pm 6,1$. O número de estruturas recuperadas foi de $3,0 \pm 0,5$ e o número de embriões viáveis recuperados foi de $3,8 \pm 0,6$. Já o método cirúrgico de coleta obteve valores menores nos tópicos apresentados.

CONCLUSÕES:

Concluiu-se que o teste de transposição cervical utilizando o dilatador de Hegar tem grande potencial de uso como método para identificar ovelhas doadoras de embriões hábeis para a coleta não cirúrgica de embriões, a partir da alta sensibilidade e acurácia demonstrados nos cálculos. Também, com base nos cálculos das taxas de recuperação embrionária mostram a eficácia do método não cirúrgico de coleta de embriões em ovelhas Santa Inês.

Agradecimentos:

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pela concessão da bolsa de IC (E-26/202.507/2017). Ao CNPq (400785/2016) e a Embrapa (Projeto 02.13.06.026.00.02) pelo financiamento do projeto, ao Grupo de Estudo, Pesquisa e Extensão em Caprinos e Ovinos (GEPECO) por me proporcionar conhecimento, aprendizado e interação com os meus colegas e amigos na universidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brand A., Drost M. Embryo transfer by non-surgical methods. In: Betteridge KJ (Ed.). Embryo transfer in farm animals. Ottawa: Canada Department of Agriculture 1977b. p.31-34.

Cavalcanti, A.S.; Brandão, F.Z.; Nogueira, L.A. G.; Fonseca, J.F. Effects of GnRH administration on ovulation and fertility in ewes

subjected to estrous synchronization. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 41, p. 1412-1418, 2012.

Mobini, S.; Heath, A.M.; Pugh, D.G. Teriogenologia de ovinos e caprinos. In: PUGH, D.G. (Ed.), *Clinica de Ovinos e Caprinos*. São Paulo: Roca, 2005. 513p.

Oliveira, M.E.F. State-of-the-art in the superovulation of ewes. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.39, Suppl. 1, p.29-35, 2011.





Ciências Agrárias

Avaliação da Expressão do Gene e da Proteína HER-2 em Neoplasias Mamárias Malignas de Gatas Submetidas a Tratamento Cirúrgico

Kássia Maria de Souza, Vanessa Araujo de Moraes, Simone Carvalho dos Santos Cunha, Kássia Valéria Gomes Coelho da Silva, Ana Maria Reis Ferreira.

Setor de Anatomia Patológica Veterinária/ Deptº. de Patologia e Clínica Veterinária (MCV), Faculdade de Veterinária, UFF

INTRODUÇÃO:

Os tumores mamários felinos (TMF) são a terceira neoplasia mais frequente, seguida das neoplasias hematopoiéticas e das neoplasias de pele, representando 17% dos tumores nesta espécie. Ao contrário dos tumores mamários em cadelas, na gata, estes tumores são maioritariamente malignos (85%), e apresentam um prognóstico bastante reservado e um tempo médio de sobrevida muito reduzido.

Estudos tem identificado que os TMF apresentam uma superexpressão da oncoproteína HER-2, semelhante ao tumor mamário humano do tipo HER-2 positivo (HER2+), classificado como um tipo de carcinoma mamário mais agressivo na medicina humana.

Em 1987, Slamon et al. descreveram a relação entre amplificação do gene HER-2 e o prognóstico agressivo nas neoplasias mamárias humanas, e em 2001, o mesmo grupo de pesquisadores demonstraram o benefício do tratamento imunoterápico com anticorpo monoclonal anti-HER-2 em carcinomas de mama. Desde então, viu-se a importância de estudos que avaliem o comportamento do gene HER-2 (Slamon et al, 2001).

O gene HER-2 (receptor do fator de crescimento epidérmico humano-2), localizado no cromossomo 17q12-21, é um gene responsável pela produção da proteína HER-2, uma glicoproteína pertencente à família dos receptores ativadores de tirosinas cinases. Essa proteína tem um papel importante na regulação do crescimento e desenvolvimento de uma série de células epiteliais.

Cerca de 30% dos pacientes com câncer de mama humano apresentaram expressão positiva da proteína HER-2 e amplificação gênica. (SHI et al., 2019).

Millanta et al. (2005) relataram a mesma superexpressão em 59% dos 47 casos de carcinoma mamário felino e verificaram que estava significativamente associado a uma menor sobrevida dos animais. Além disso, relataram que o domínio quinase do gene HER-2 felino tinha 92% de homologia com o do humano, e também encontraram superexpressão de HER-2 em 39% dos carcinomas mamários felinos testados.

Dentro desse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a expressão da proteína e do gene HER-2 associado ao grau de malignidade tumoral dos carcinomas mamários em felinos, permitindo avaliar a patogênese e prever o prognóstico de tumores mamários felinos com esse marcador, avaliando também a viabilidade do uso de felinos como modelos experimentais para estudos de tumores de mama em humanos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Neste estudo foram utilizadas as lesões tumorais coletadas de 20 gatas com idades variando de 7 a 13 anos.

Dentre as 20 lesões duas apresentaram diagnóstico de neoplasia benigna, por tanto, foram excluídas deste estudo preliminar. Dos 18 animais com lesões malignas, 14 eram sem raça definida (SRD), representando 77,78% dos animais. Dois eram da raça Siamês representando 11,11% dos animais; um animal da raça persa e apenas um era da raça British shorthair, representando 5,56%, respectivamente. Foram avaliados ainda dados sobre o status reprodutivo de cada animal, sendo divididos em castrado precocemente (CP), castrado na mesma data da mastectomia (CCM), castrado tardiamente (CT), castrado em data desconhecida (CEDD) e animais inteiros. A

proporção tanto de CP quanto de CCM foi de 11,12%, correspondendo a dois animais, respectivamente. Os animais CT corresponderam a 61,11% (11 animais) e aqueles CEDD correspondeu a 11,12% (dois animais). Estes resultados demonstram que, assim como descrito na literatura, os animais não castrados apresentam maior risco de desenvolver a doença e que a castração possui efeito protetivo (SILVA et al, 2015).

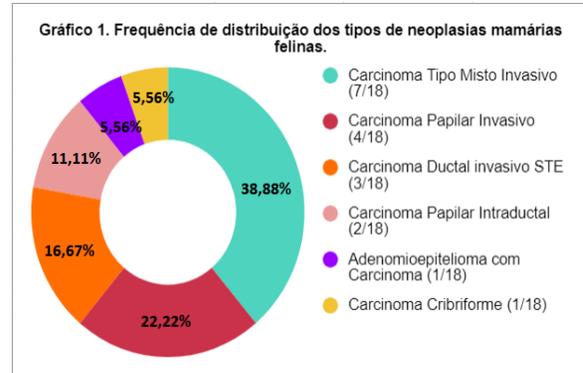
Todas as lesões foram classificadas quanto ao seu tipo histológico, baseadas na classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS), obtendo-se a seguinte distribuição: 38,89% - Carcinoma Tipo Misto Invasivo (7/18), com grau histológico 3; 22,22% - Carcinoma Papilar Invasivo (4/18), com grau histológico 2; 16,67% - Carcinoma Ductal invasivo STE (3/18) com grau histológico 2; 11,11% - Carcinoma Papilar Intraductal (2/18) com grau histológico 2; 5,56% - Adenomioepitelioma com Carcinoma com grau histológico 2 (1/18); 5,56% - Carcinoma Cribriforme (1/18) com grau histológico 0 (Gráfico 1).

Com relação ao Grau histológico, 15 de 18 animais apresentavam classificação igual ou superior a 2 (83,33%), evidenciando o caráter maligno da doença relatado em literatura (SILVA et al, 2016).

Com relação aos demais aspectos macroscópicos de malignidade, 16 de 18 animais apresentavam invasão local (88,88%), a mesma porcentagem se aplica a animais que não apresentavam úlcera (88,88%). Com relação à presença de necrose, 11 de 18 animais apresentavam algum grau de necrose (61,11%) sendo 4 casos, acentuada.

Com relação aos aspectos microscópicos o número médio de mitoses encontrado foi de 29 mitoses, e com relação a citoplasma e núcleo todos os animais apresentavam algum grau de alteração.

As análises imuno-histoquímicas ainda estão sendo realizadas, assim como a definição dos protocolos moleculares, com utilização de amostras frescas e parafinadas, para a detecção da proteína e gene HER-2.



CONCLUSÕES:

Até o momento, pode-se concluir que os elevados índices de aspectos de malignidade observados na análise histopatológica, corroboram com os dados encontrados na literatura, demonstrando o maior grau de malignidade da neoplasia mamária na espécie felina.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço ao CNPq pela oportunidade concedida, Proppi-UFF e FAPERJ, à minha orientadora, à doutoranda Vanessa Araujo de Moraes e à Simone Carvalho dos Santos Cunha por toda a ajuda durante o projeto. Agradeço também ao setor de Anatomia Patológica, por fornecer toda a infra-estrutura necessária para que este projeto pudesse ser realizado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

MILLANTA, F. *et al*, Comparison of steroid receptor expression in normal, dysplastic, and neoplastic canine and feline mammary tissues, *Research in Veterinary Science*, v. 79, n. 3, p. 225–232, 2005.

SILVA, T C. *et al*, Castração pediátrica em cães e gatos: revisão da literatura. *Medicina Veterinária (UFRPE)*, Recife, Vol.9, 1-4, 20-25, 2015.

SILVA, M N, *et al*, Histologic evaluation of Ki-67 and cleaved caspase-3 expression in feline mammary carcinoma. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 25 de fevereiro de 2016.

SLAMON, D. J. *et al*, Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene, *Science (New York, N.Y.)*, v. 235, n. 4785, p. 177–182, 1987.

SLAMON, D. J. *et al*, Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2, *The New England Journal of Medicine*, v. 344, n. 11, p. 783–792, 2001.

SHI, Pengfei; CHEN, Cheng; YAO, Yufeng, Correlation Between HER-2 Gene Amplification or Protein Expression and Clinical Pathological Features of Breast Cancer, *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals*, v. 34, n. 1, p. 42–46, 2019.



Ciências Agrárias

Alterações no hemograma em decorrência da variação da concentração do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) em amostras sanguíneas de gatos com doença renal.

Victória de Mello Silva (Bolsista FAPERJ), Marthiellen Roosevelt de Lima Felix (aluno colaborador), Juliet Cunha Bax (aluno colaborador), Gabrielly Ferreira Santos (aluno colaborador), Renata Barbosa Faria (aluno colaborador), Hanna Lavagnole Nascimento (aluno colaborador), Aline Moreira de Souza (Orientadora)

Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Laboratório de Pesquisa Clínica e Diagnóstico Molecular Professor Marcilio Dias do Nascimento (LAMADIN).

INTRODUÇÃO:

O hemograma é um dos exames laboratoriais mais utilizados na rotina clínica como apoio ao diagnóstico. Este fornece informações quantitativas e qualitativas sobre todas as células sanguíneas do animal.

Para impedir a coagulação do sangue, até seu respectivo processamento, é utilizado o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), que gera modificações na morfologia das células visualizadas ao microscópio. Somado a isso, a temperatura de armazenamento inadequada, a espera durante horas para o processamento e o excesso de anticoagulante não proporcional ao volume de sangue em cada tubo acabam por dificultar ainda mais um laudo fidedigno. Assim, em casos de preenchimento inadequado do tubo de coleta com volume de sangue inferior ao recomendado os resultados obtidos podem ter alterações que comprometem a correta interpretação do exame. Entretanto, é muito comum o processamento de amostras de felinos com essa característica em Laboratórios de Patologia Clínica Veterinária, devido a dificuldade na coleta de sangue.

Em casos de felinos com lesão renal ou doença renal crônica, essas alterações podem ser ainda mais significativas, visto que apenas pelo quadro metabólico do animal já é possível identificar maior fragilidade das células sanguíneas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O objetivo desse trabalho foi avaliar a quantidade e morfologia das células sanguíneas de felinos com doença renal expostas a diferentes concentrações de EDTA.

O trabalho foi aprovado pela CEUA UFF. Foram avaliados os resultados do hemograma de 13 felinos com doença renal (segundo avaliação de creatinina, pressão arterial e relação proteína-creatinina urinária). Os animais foram atendidos no Hospital Universitário de Medicina Veterinária Professor Firmino Mársico Filho (HUVET) da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense. Os tutores consentiram na realização desse estudo. As coletas de sangue foram realizadas em um único momento, por venopunção cefálica ou jugular. O volume de sangue obtido foi acondicionado em tubos pediátricos com K2 EDTA (mesma marca e lote) com capacidade para 0,5 mL de sangue, conforme ordem a seguir: A – 0,5 ml de sangue (1,8 mg de EDTA/mL de sangue) e B – 0,25 mL de sangue (3,6 mg de EDTA/mL de sangue) e C – 0,125 ml de sangue (7,2 mg de EDTA/mL de sangue). Os hemogramas foram realizados até 30 minutos após a coleta por metodologia automatizada (Sysmex – modelo Poch 100 iV) no Laboratório de Pesquisa Clínica e Diagnóstico Molecular Professor Marcilio Dias do Nascimento (LAMADIN). Esfregaços sanguíneos foram confeccionados imediatamente, com os três tubos de amostra sanguínea (A, B e C) de cada animal, sendo analisados em microscopia de imersão (aumento de 1000x), após coloração com corante instantâneo.

A variação observada entre os resultados dos hematócritos dos grupos A, B e C foi discreta, sendo A 33,77%, B 33,31% e para o grupo C 33,75%. Os valores de leucometria global teve como média para o grupo A 11.092,31/ μL , para o grupo B 10.930,77/ μL e para o grupo C 10.907,69/ μL , mostrando que conforme aumentava a concentração de EDTA também ocorria diminuição nos valores. Quanto aos resultados da plaquetometria no contador hematológico os animais apresentaram como média para o grupo A, B e C; 132.923,08/ μL , 119.000,00/ μL e 133.153,85/ μL , respectivamente. E na estimativa de plaquetas no esfregaço sanguíneo observou-se para o grupo A 222.333,33/ μL , para o grupo B 230.772,73/ μL e para o grupo C 209.840,91/ μL . Com relação a hematoscopia, poucas alterações foram observadas. Entretanto, foi observada diminuição de linfócitos e aumento de neutrófilos nos tubos B e C. As maiores médias na estimativa em esfregaço sanguíneo pode ser justificada pela frequente agregação plaquetária visualizada nas amostras, principalmente dos tubos com maiores concentrações de EDTA em proporção ao sangue, fato frequentemente observado na clínica médica de felinos e que gera alteração nos resultados para este parâmetro.

CONCLUSÕES:

Os resultados iniciais indicam que há uma variação não muito significativa entre os valores de hematócrito e leucometria global dos felinos doentes renais. Na plaquetometria já é possível identificar um maior efeito do anticoagulante em excesso nos tubos, o qual gera frequente agregação plaquetária.

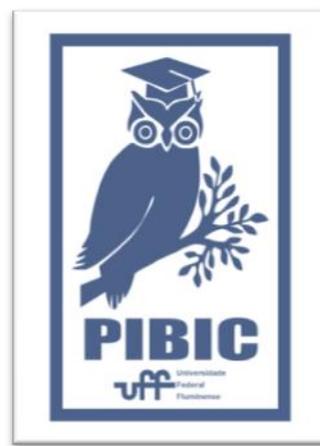
CONCLUSÕES:

Este estudo demonstrou variações discretas entre os parâmetros hematológicos de felinos com doença renal, em diferentes concentrações de EDTA. Os valores de hematócrito, leucometria global e plaquetometria tiveram discreta diminuição que acompanhava o aumento de concentração de EDTA. Os valores de linfócitos diminuíram e os de neutrófilos aumentaram conforme houve aumento de

concentração de EDTA. Torna-se importante ampliar gradativamente o número de animais para realização de análise estatística e confirmação destes resultados preliminares, para que possam ser aplicados na rotina clínica de felinos.

Agradecimentos:

A FAPERJ pelo incentivo a pesquisa.





Ciências Agrárias / Medicina Veterinária

Avaliação do efeito de drogas visando à dilatação cervical em ovelhas na qualidade dos embriões produzidos *in vivo*.

Ana Beatriz da Silva Carvalho, Juliana Dantas Rodrigues, Felipe Zandonadi Brandão

Departamento de Patologia e Clínica Veterinária / Faculdade de Veterinária / Setor de Reprodução Animal

INTRODUÇÃO:

A crescente exigência mundial por produção de alimentos seguros e sustentáveis associada as inúmeras vantagens relacionadas à biotécnica de múltipla ovulação e transferência de embrião (MOTE), têm demandado o incremento da sua eficiência. Tanto a coleta como a transferência de embriões são etapas chave para o sucesso dessa biotécnica (Rubianes et al., 1995; Gomes et al., 2014). Já é bem consolidado que o método de coleta de embriões não cirúrgica pela via transcervical é uma alternativa viável, que pode substituir o procedimento cirúrgico para tal finalidade (Fonseca et al., 2013).

Devido ao custo relativamente baixo, risco de morte reduzido (devido aos protocolos anestésicos utilizados) e recuperação rápida, a coleta por via transcervical tem sido bastante estudada e sua eficiência comprovada em caprinos (Fonseca et al., 2019b,c; Prellwitz et al. 2019), além da vantagem de não promover sequelas pós-cirúrgicas. Esforços também têm sido dispensados para aplicar esta realidade ao rebanho ovino. Contudo, na ovelha, os desafios são maiores, além do valor econômico limitado desses animais e a anatomia relativamente pequena dos órgãos reprodutivos (que dificulta a manipulação através da palpação retal), existe a principal limitação da espécie que se trata da tortuosidade da cérvix, que impede a introdução de instrumentos, e consequentemente o acesso uterino (Kershaw et al., 2005). Desta forma, a necessidade de procedimentos invasivos torna a MOTÉ menos prática nesta espécie, o que limita seu uso generalizado.

Para que a transposição cervical e consequentemente a coleta de embriões por essa via sejam possíveis, se faz necessária a utilização de protocolos hormonais visando o relaxamento da cérvix e, por conseguinte mudanças conformacionais que facilitam a

passagem pelo canal. Diversos estudos nessa perspectiva já foram realizados e atestam o efeito dilatador dos hormônios analisados, tais como prostaglandina E, benzoato de estradiol, ocitocina, FSH (Candappa et al., 2009; Falchi et al., 2012 Bartlewski et al., 2015; Leethongdee et al., 2016). A utilização dessas preparações hormonais que facilitam o relaxamento cervical no momento da coleta aliada a animais com cérvix menos sinuosa podem, enfim, possibilitar a coleta não cirúrgica na espécie ovina. Contudo, o efeito desses protocolos hormonais sobre a qualidade embrionária, ainda não está elucidado. Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito do protocolo hormonal de dilatação cervical sobre a qualidade do embrião ovino.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O referido projeto foi encaminhado e aprovado pelo o Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense (Protocolo 699/2015) e realizado conforme as normas.

Este estudo foi realizado no Setor de Ovinocultura e na Unidade de Pesquisa Experimental em Caprinos e Ovinos (UniPECO) localizados na Fazenda Escola da Faculdade de Veterinária em Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brasil. Foram utilizadas ovelhas da raça Santa Inês em sistema de confinamento total e devidamente vacinadas. Os seguintes fatores foram considerados, preferencialmente, como critérios de seleção das fêmeas: (1) características fenotípicas da raça, (2) condição sanitária, (3) escore da condição corporal, (4) desempenho produtivo e reprodutivo. Exame clínico-ginecológico foi efetuado nas doadoras. Apenas machos e fêmeas em perfeito estado de saúde foram utilizados.

O estro foi sincronizado com um protocolo curto previamente descrito e utilizado pelo nosso

grupo (Balaro et al., 2016). Brevemente, todas as ovelhas (n = 40) receberam uma esponja intravaginal (60mg de acetato de medroxiprogesterona), que foi mantida por 6 dias. No quinto dia, foram aplicados por via intramuscular 0,24mg de cloprostenol sódico e 300UI de gonodotrofina coriônica equina. No sexto dia, a esponja intravaginal foi retirada e 24 horas depois foi aplicado por via intramuscular 0,025mg de acetato de gonadorelina.

O tratamento de superovulação foi realizado 80 h após a remoção da esponja, com 133 mg pFSH que foram administrados em seis doses decrescentes com intervalo de 12 h. Uma nova esponja foi inserida simultaneamente com a primeira dose de FSH, e foi retirada quando a quinta dose foi administrada. Cloprostenol sódico (0,24 mg) foi administrado em conjunto com a sexta dose de FSH, e 24 h depois os animais receberam 0,025 mg de acetato de gonadorelina. Foram realizadas detecções de estro com um carneiro vasectomizado e monta natural controlada com cinco carneiros de fertilidade comprovada, duas vezes ao dia, a partir da quinta dose de FSH. Foi considerado comportamento de estro quando a ovelha permitia a monta.

Para contagem de corpos lúteos (CLs) produzidos pelo protocolo de superovulação, foi realizado procedimento laparoscópico com intuito de mensurar a taxa de recuperação de embriões. Os animais foram mantidos previamente em jejum alimentar e hídrico de 36h, a laparoscopia foi realizada imediatamente antes da coleta de embriões. Primeiramente foi realizada sedação com acepromazina (0,1 mg.kg⁻¹ Acepran®, Vetnil, Louveira, Brasil) e diazepam (0,2 mg.kg⁻¹ Diazepam®, Teuto, Anápolis, Brasil) por via endovenosa. Com a região abdominal tricotomizada, os animais foram contidos em maca apropriada e colocados em posição de Trendelenburg. Na sequência foi realizada anestesia local com Cloridrato de Lidocaína a 2% (Lidovet®, Bravet, Rio de Janeiro) nos locais das incisões. O acesso à cavidade abdominal para inserção da ótica e dos demais instrumentos foi realizado através da introdução de dois trocateres por via transabdominal. O primeiro foi inserido cranial ao úbere e à esquerda da linha média para introdução da ótica rígida de Hopkins de 5 mm adaptada a um sistema de vídeo. Foi insuflado ar filtrado com o intuito de gerar pneumoabdômen para facilitar a visualização e

a manipulação do trato reprodutivo. Um segundo trocater foi inserido do lado direito e através deste, foi inserida uma pinça atraumática. Na linha média foi inserida uma agulha de Veres para auxiliar no manuseio das estruturas reprodutivas. Uma vez que o trato reprodutivo foi localizado, os ovários foram fixados com ajuda da pinça e então foi realizada uma varredura em todo o ovário para visualização dos CLs. Ao término, os ovários e órgãos adjacentes foram lavados com solução fisiológica acrescida de heparina (5 UI/ mL) a 37°C.

Os animais foram divididos em dois grupos experimentais de forma balanceada (de acordo com a resposta superovulatória – baixa: 0 a 4, mediana: 5 a 8, boa mais que 8 corpos lúteos – peso e escore de condição corporal. No grupo tratado, as ovelhas receberam o protocolo hormonal de dilatação cervical, o qual consistiu na administração de benzoato de estradiol i.v. (20 µg/mL; RIC-BE®, Agener Union, São Paulo, Brazil) diluído com 2,5 mL de álcool absoluto e 2,5 mL de solução salina, e Cloprostenol Sódico i.m. (0,12 mg; Estron®, Agener União, São Paulo Brazil), 12 h antes da coleta de embrião. Além disso, 100 UI de ocitocina foram administrados i.v. (Ocitocina Forte UCB®, Centrovét, Goiânia, Brazil) 15 min antes do procedimento de coleta de embrião (Leite et al., 2018). Já no grupo controle, as ovelhas receberam solução salina em substituição aos hormônios utilizados no grupo tratado, nas mesmas quantidades, horários e vias de administração.

A coleta de embriões foi realizada pelo método cirúrgico de acordo com o descrito por Timponi et al. (2015). Para o procedimento foi realizada anestesia geral, com indução anestésica à base de propofol (dose máxima de 4 mg.kg⁻¹) e quetamina (0,6 mg.kg⁻¹), por via endovenosa. A manutenção do plano anestésico foi realizada com 3% de isoflurano por meio de um equipamento de anestesia inalatória. O útero foi identificado e fixado através de laparoscopia e em seguida foi realizada uma pequena incisão que permitiu o tracionamento e exposição do útero. A lavagem foi realizada por meio de uma sonda de foley número 8 na porção proximal do corno uterino, que teve o balão inflado para evitar refluxo de líquido. Na porção distal do corno uterino, foi inserida uma sonda uretral nº 6 por onde o meio DMPBS foi injetado (40 mL por corno uterino).

Após o procedimento de coleta, os cornos foram lubrificados com pomada de heparina sódica e inseridos na cavidade abdominal que também foi irrigada com solução fisiológica acrescida de heparina (5 UI/ mL) e dexametasona (0.025 mg/mL). Ao final dos procedimentos, as camadas muscular, subcutânea e dérmica foram suturadas, separadamente. Os animais receberam durante três dias, a cada 24 horas, anti-inflamatório não-esteroidal na dose de 0,5 mg.kg⁻¹ via i.m. e antibiótico na dose de 20 mg.kg⁻¹ via i.m., a cada 48 horas, totalizando 3 aplicações.

Todos os embriões foram classificados de acordo com critérios da IETS. Foram considerados embriões de grau I aqueles sem defeitos morfológicos ou extrusões celulares; grau II na presença de uma ou poucas extrusões celulares ou discretas alterações de coloração; Grau III embriões com maior número de alterações morfológicas e extrusões celulares, mas com pelo menos 50% da massa celular íntegra e mostrando sinais de desenvolvimento; Grau IV embriões com extrusões ou fragmentação comprometendo mais que 50% da massa celular interna, dificultando a classificação das células viáveis (Viana, 2009).

Foram avaliadas as seguintes respostas: taxa de recuperação de embriões, número de estruturas coletadas, número de embriões viáveis e qualidade morfológica dos embriões coletados em cada grupo experimental.

Em relação à quantidade de corpos lúteos, no grupo tratado foram produzidos um total de 144 considerando ambos os ovários, já no grupo controle os animais produziram um total de 137 corpos lúteos. Dessa forma, os 18 animais oriundos do grupo controle geraram uma média de 7,6 corpos lúteos, enquanto que 7,2 foi a média encontrada para o grupo tratado. Não foi observada diferença significativa na quantidade de corpos lúteos entre os grupos ($P>0,05$).

Após o procedimento de laparotomia, lavagem e coleta dos embriões as estruturas recuperadas foram avaliadas e contabilizadas para cálculo da taxa de recuperação em cada grupo (no grupo controle, dois animais vieram a óbito e dentre os 18 animais restantes, um animal não apresentou corpo lúteo, portanto foi excluído do cálculo); As taxas de recuperação foram de 52,0% e 67,2% para o grupo tratado e controle,

respectivamente. Os valores das taxas de recuperação por animal entre os grupos diferiram significativamente ($P<0,05$), no entanto, a quantidade de estruturas totais recuperadas não apresentaram tal diferença ($P>0,05$).

No grupo tratado com protocolo de relaxamento de cérvix foi recuperado um total de 47 embriões, já no grupo controle, um total de 63 embriões. Levando em conta a viabilidade e a qualidade dos embriões (grau 1 e 2), observamos no grupo tratado que, das 20 ovelhas, apenas em 12 foi possível recuperar 40 embriões de boa qualidade, considerando uma média de 3,3. Já no grupo controle das 18 ovelhas, apenas em 14 foi recuperado um total de 57 embriões de boa qualidade, considerando uma média de 4,1. Sendo assim, pode-se gerar um total de 97 embriões de boa qualidade. Apesar dessa quantidade de embriões ter sido numericamente superior no grupo controle, não foi o suficiente para gerar diferença significativa entre os grupos, tanto para as taxas de recuperação, bem como para o total de embriões de boa qualidade recuperados ($P>0,05$). Portanto, em termos de qualidade, o protocolo de tratamento não gerou discrepância entre os grupos.

CONCLUSÕES:

O protocolo hormonal de relaxamento cervical em questão, além de viabilizar a transposição da cérvix em ovelhas da raça Santa Inês, não influencia a qualidade morfológica dos embriões produzidos in vivo, dessa forma o mesmo pode ser considerado em estudos/práticas futuras.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro para a realização do presente estudo. Ao Grupo de Estudo, Pesquisa e Extensão em Caprinos e Ovinos (GEPECO) por me proporcionar toda a vivência e aprendizado na área de pequenos ruminantes, que foi fundamental para meu crescimento acadêmico e profissional. A doutoranda Juliana Dantas Rodrigues por todo carinho e atenção na participação de seu projeto. Por fim, agradeço o meu orientador Prof^o Felipe Zandonadi Brandão, por todo comprometimento e zelo com este e outros projetos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Balaro, M. F. A.; Fonseca, J. F.; Barbosa, T. J. B.; Souza-Fabjan, J. M. G.; Figueira, L. M.; Teixeira, T. A.; Carvalheira, L. R.; Brandão, F. Z. Potential role for GnRH in the synchronization of follicular emergence before the superovulatory Day 0 protocol. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 54, p. 10-14, 2016.

Bartlewski, P. M.; Candappa, I. B. R. Assessing the usefulness of prostaglandin E2 (Cervidil) for transcervical artificial insemination in ewes. *Theriogenology*, p. 1-9, 2015.

Candappa, I. B. R.; Bainbridge, H. C.; Price, N. T.; Hourigan, K. R.; Bartlewski, P. M. A preliminary study on the suitability of Cervidil to induce dilation for artificial insemination in ewes. *Research in Veterinary Science*, v. 87, p. 204-206, 2009.

Falchi, L.; Taema, M.; La Clanche, S.; Scaramuzzi, R. J. The pattern of cervical penetration and the effect of topical treatment with prostaglandin and/or FSH and oxytocin on the depth of cervical penetration in the ewe during the peri-ovulatory period. *Theriogenology*, v. 78, p. 376-384, 2012.

Fonseca, J. F.; Souza-Fabjan, J. M. G.; Oliveira, M. E.; Leite, C. R.; Nascimento-Penido, P. M.; Brandão, F. Z.; Lehloeny, K. C. Nonsurgical embryo recovery and transfer in sheep and goats. *Theriogenology*, v. 86 (1), p. 144-151, 2016.

Fonseca, J. F.; Zambrini, F. N.; Alvim, G. P.; Peixoto, M. G. C. D.; Verneque, R. S.; Viana, J. H. M. Embryo production and recovery in goats by non-surgical transcervical technique. *Small Ruminant Research*, v. 111, p. 96-99, 2013.

Fonseca, J.F.; Zambrini, F.N.; Guimarães, J.D.; Silva, M.R.; Oliveira, M.E.F.; Bartlewski, P.M.; Souza-Fabjan, J.M.G. Cervical penetration rates and efficiency of non-surgical embryo recovery in estrous-synchronized Santa Inês ewes after administration of estradiol ester (benzoate or cypionate) in combination with d-cloprostenol and oxytocin. *Animal Reproduction Science*, v.203, p.25-32, 2019c.

Fonseca, J. F.; Zambrini, F. N.; Guimarães, J. D.; Silva, M. R.; Oliveira, M. E. F.; Brandão, F. Z.; Bartlewski, P. M.; Souza-Fabjan, J. M. G. Combined treatment with oestradiol benzoate, d-

cloprostenol and oxytocin permits cervical dilation and nonsurgical embryo recovery in ewes. *Reproduction in Domestic Animal*, v.54, p.118-125, 2019b.

Gomes, M. G. T.; Varago, F. C.; Henry, M. R. J. M.; Borges, I.; Martins, T. L. T.; Ferreira, D. A. Fatores que interferem na transferência de embriões em ovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 38 (1), p. 15-24, 2014.

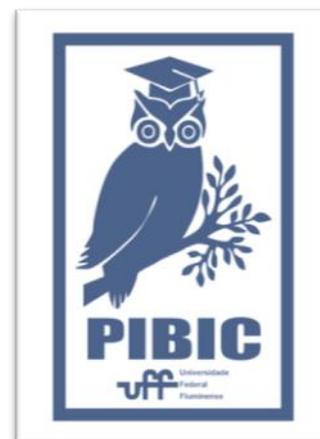
Leethongdee, S.; Khalid, M.; Scaramuzzi, R. J. The effect of the intra-cervical administration of follicle stimulating hormone or luteinizing hormone on the levels of hyaluronan, COX2 and COX2 mRNA in the cervix of the non-pregnant ewe. *Theriogenology*, 10.1016/j.theriogenology.2016.07.014, 2016.

Kershaw, C. M.; Khalid, M.; McGowan, M. R.; Ingram, K.; Leethongdee, S.; Wax, G.; Scaramuzzi, R. J. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology*, v. 64, p. 1225-1235, 2005.

Prellwitz, L.; Zambrini, F. N.; Guimarães, J. D.; Sousa, M. A. P.; Oliveira, M. E. F.; Garcia, A. R.; Esteves, S. N.; Bartlewski, P. M.; Souza-Fabjan, J. M. G.; Fonseca, J. F. Comparison of the intravenous and intravaginal route of oxytocin administration for cervical dilation protocol and non-surgical embryo recovery in estrous-induced Santa Inês ewes. *Reprod Domest Anim*, 2019.

Rubianes, E.; Ibarra, D., Ungerfeld, R.; Carbajal, B.; de Castro, T. Superovulatory response in anestrus ewes affected by the presence of a large follicle. *Theriogenology*, v. 43, p. 465-472, 1995.

Viana, J. H. M. Classificação de embriões bovinos produzidos in vivo. *Embrapa Gado de Leite. Comunicado técnico* v. 59, p.1-4, 2009.





Ciências Agrárias

Estratégias para a otimização da maturação *in vitro* de oócitos de felinos domésticos

Nathalia Oliveira Barbosa, Maria Clara da Cruz Morais,
Viviane Lopes Brair, Rodrigo Oliveira Cunha, Joanna Maria
Gonçalves Souza-Fabjan

Departamento de Patologia e Clínica Veterinária/ Faculdade
de Veterinária / Setor de reprodução animal

INTRODUÇÃO:

Os gatos domésticos são descendentes próximos de outros felinos selvagens, tendo vestígios genéticos de pelo menos cinco espécies selvagens diferentes. Desta forma, torna-se possível a utilização do gato doméstico como modelo experimental reprodutivo para os felinos selvagens ameaçados de extinção.

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) é uma biotecnologia que tem demonstrado potencial na conservação de espécies ameaçadas de extinção. Provavelmente, a etapa mais limitante da PIVE é a maturação *in vitro* (MIV) e sua eficiência está diretamente relacionada à taxa final de formação de blastocistos. Entretanto, a literatura é extremamente variável no tocante às condições ótimas da MIV em felinos, como por exemplo, na duração desta etapa, constituintes do meio, dentre outros.

O sucesso da PIVE está relacionado principalmente com a competência intrínseca ao desenvolvimento dos oócitos e às condições encontradas na MIV. Os oócitos felinos caracterizam-se por terem uma alta concentração lipídica, o que é desfavorável para seu desenvolvimento *in vitro* e criopreservação. Algumas substâncias, como a L-carnitina, são importantes para o metabolismo celular e na via da β -oxidação, atuando no transporte de ácidos graxos e gotículas lipídicas às mitocôndrias, e no transporte de intermediários dessa via. Portanto, esta molécula é capaz de manter a homeostase celular.

Devido as características dos oócitos felinos, e a necessidade do aumento das taxas de MIV nessa espécie, para otimização e utilização posterior na conservação de espécies ameaçadas de extinção, é importante avaliar o tempo adequado da duração da MIV e investigar

a utilização de novas substâncias nos meios de maturação para potencializar as taxas. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito de diferentes tempos de maturação (24 e 28 h) e a utilização da L-carnitina no meio de maturação *in vitro* de gatas domésticas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram utilizados 50 ovários obtidos por meio de ovário-histerectomia eletiva de gatas em idade reprodutiva. No experimento 1, foram avaliados os tempos de MIV de 24 h ou 28 h na taxa de maturação nuclear (cinco repetições). No experimento 2, a influência da L-carnitina no meio de MIV foi avaliada (seis repetições). Os tratos reprodutivos foram mantidos em solução salina 0,9% a 4 °C para o transporte por até 2 h. Os ovários foram fatiados para a recuperação de Complexos *Cumulus* oócito (COCs) e após os COCs foram graduados de I a IV de acordo com a quantidade de camadas de células do cumulus e homogeneidade do citoplasma, sendo utilizados apenas os COCs de graus 1 e 2 (G1 e G2).

O meio utilizado na MIV é composto por TCM199 suplementado com 25 mM de HEPES e 2,2 mg/mL de NaHCO_3 , 4 mg/mL de BSA, 0,5 $\mu\text{g/mL}$ de FSH, 1 $\mu\text{g/mL}$ de 17β -estradiol, 0,2 mM de piruvato e 50 $\mu\text{g/mL}$ de solução antimicótica e antibiótica (estreptomicina, penicilina e anfotericina B), com ou sem adição de 0,5 mg/mL de L-carnitina (somente no experimento 2). No experimento 1 os COCs foram transferidos para gotas de 50 μL de meio de MIV revestidas por óleo mineral, já no experimento 2 foram transferidos para placa de quatro poços com 500 μL de meio, divididos em dois grupos com e sem L-carnitina. Ambos,

foram incubados a 38,5 °C sob atmosfera de 5% de CO₂.

Ao final da MIV foi feito o desnudamento dos COCs, utilizando 100-500 UI/mL de hialuronidase, após foram transferidos para solução de fixação (200 µL de paraformaldeído 4% + BSA 1%), sendo mantidos nessa solução por no mínimo 24 h. Após a fixação os oócitos foram corados em 1 µg/µL Hoechst diluído em TCM199. Após coloração, os oócitos foram classificados de acordo com o estágio da maturação nuclear, em: metáfase II (MII), vesícula germinativa (VG), quebra de vesícula germinativa (QVG) ou degenerados (DEG). Oócitos em estágio de VG, QVG ou DEG foram considerados não maturados. Somente os oócitos em MII, que apresentavam extrusão do primeiro corpúsculo polar foram considerados como maturados.

Para análise estatística dos dados relacionados à duração e suplementação do meio na MIV foi realizado o teste de qui-quadrado (χ^2), assumindo um valor de P menor que 0,05 como significativo.

No experimento 1 houve uma tendência ($p=0,08$) na taxa de maturação nuclear do grupo incubado por 24 h, onde 42,8% dos oócitos encontravam-se em MII enquanto que apenas 25% dos oócitos encontravam-se na mesma fase no grupo de 28 h. Não houve diferença significativa nos outros parâmetros ($p>0,05$) entre os grupos 24 e 28 h sendo eles respectivamente: VG 9,5% e 7,5%, QVG 26,2% e 35%, DEG 21,4 % e 32,5%.

No experimento 2 não houve diferença ($p>0,05$) entre os grupos, e os resultados da MIV com ou sem a presença de L-carnitina foram, respectivamente: MII 51,4% e 38,2%, VG 2,7% e 8,8%, QVG 32,4% e 26,5%, DEG 16,2% e 26,5%.

Não existe na literatura um tempo ideal para MIV com oócitos felinos, onde muitos estudos divergem quanto o período de maturação. No presente estudo foram comparados os tempos de 24 e 28 h e não houve diferença significativa. No entanto, foi possível observar uma tendência em que as taxas de maturação foram mais altas com o tempo de 24 h, tendo o grupo de 28 h uma redução de 18% em MII e aumento de 11% no número de oócitos degenerados.

Os efeitos da adição de L-carnitina sobre a PIVE são controversos de acordo com a espécie. Em bovinos, foi obtido maior taxa de maturação, já em suínos e caprinos não houve diferença nos resultados. No presente estudo, não houve diferença significativa apesar do aumento de

13,2% no grupo com L-carnitina. É necessário realizar estudos para avaliar o efeito dessa substância sobre as taxas de clivagem, formação de blastocistos e desenvolvimento embrionário de felinos domésticos.

CONCLUSÃO:

Em conclusão, não houve diferença estatística em ambos os experimentos, no entanto, na comparação da maturação por 24 h x 28 h houve uma tendência, onde um maior número de oócitos atingiu a MII no primeiro grupo. Já no experimento 2, o grupo com L-carnitina foi numericamente melhor, com taxas de maturação nuclear 13,2% superiores ao grupo sem sua adição. Com isso, novos experimentos com maior número de animais se fazem necessários, a fim de melhorar as taxas de maturação encontradas.

AGRADECIMENTOS:

Nathalia Oliveira Barbosa foi bolsista de PIBIC CNPq, após seleção da PROPPI-UFF. Maria Clara da Cruz Morais foi bolsista PIBIC FAPERJ. Viviane Lopes Brair é mestranda nota 10 da FAPERJ. Rodrigo Oliveira Cunha é bolsista apoio técnico (TCT-4) FAPERJ. Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan é bolsista Jovem Cientista do Nosso Estado FAPERJ.

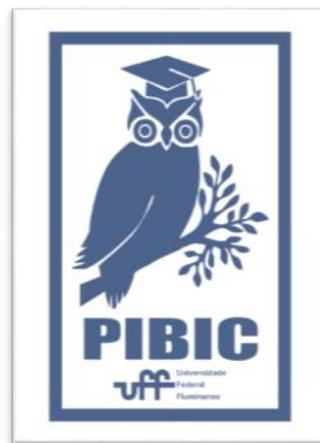


Figura 1: Logo PIBIC



Ciências Agrárias

Análise histopatológica de ovários de cadelas com caracterização de diferentes alterações e associação com lesões uterinas e de glândula mamária

Izadhora Barbosa Paiva, Sarah Marques Mendes, Maria de Lourdes Gonçalves Ferreira, Ana Maria Reis Ferreira, Marcela Freire Vallim de Mello

Setor de Anatomia Patológica Veterinária, Departamento de Patologia e Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, UFF

INTRODUÇÃO: O sistema reprodutor feminino é composto por órgãos que produzem e respondem a hormônios, sendo de grande importância para o organismo. Desequilíbrios no funcionamento de seus órgãos podem gerar alterações que afetam diretamente outros tecidos e órgãos do corpo.

Em relação às afecções de ovário nos animais, as mais comuns são os cistos e as neoplasias. Estas lesões podem determinar afecções uterinas e até mamárias, de acordo com o tipo de célula ovariana alterada e sua produção hormonal (Johnston et al., 2001).

A cadela pode ser acometida por vários tipos de cistos ovarianos, os quais podem ser originários de diferentes estruturas. Os cistos podem ser produtores de hormônios, como os cistos foliculares e os cistos luteinizados, ou não produtores, como os cistos de estruturas epiteliais subsuperficiais e os cistos de rede ovariana (*rete ovarii*) (Arlt e Haimerl, 2016).

No que se refere às neoplasias primárias de tecido ovariano, estas podem ser divididas em três categorias: as de superfície de epitélio celômico, as de cordões sexuais e estroma gonadal e as de células germinativas. As neoplasias de superfície de epitélio celômico são os cistadenomas papilares e os cistoadenocarcinomas. Os tumores de cordões sexuais e estroma gonadal são os tumores de células da granulosa e teca, tecomoma ou luteoma. E por fim, as neoplasias de células germinativas são os teratomas e os disgerminomas (Schlafer e Foster, 2015).

O tumor de células da granulosa (TCG) é o tumor ovariano mais comum observado em cadelas, tendo comportamento maligno em 20% dos casos. Este tumor produz hormônios como estrogênio e testosterona e hiperplasia endometrial e piometra são comuns em cadelas com este tipo de neoplasia (Schlafer e Foster, 2015).

Os objetivos desse projeto foram caracterizar e classificar diferentes tipos de

alterações histopatológicas ovarianas de cadelas, a partir de amostras de tecido oriundas dos arquivos do Setor de Anatomia Patológica Veterinária da UFF, verificar possíveis associações com alterações histopatológicas em amostras uterinas e mamárias do mesmo animal e comparar os resultados com os dados da literatura existente.

RESULTADOS E DISCUSSÕES: Foi feita a análise histopatológica de secções de ovários de 88 cadelas de 3 a 15 anos e de raças variadas, coradas pela técnica de rotina de Hematoxilina-Eosina (HE), oriundas de arquivo.

Na avaliação histopatológica dos ovários de 88 cadelas foram observadas as seguintes alterações, de forma isolada ou conjunta: cistos e hiperplasia de estruturas epiteliais subsuperficiais, cistos de inclusão epitelial, cistos de rede ovariana (ou rede ovariana cística), hiperplasia de rede ovariana, cistos de ductos e túbulos mesonéricos, hiperplasia das glândulas intersticiais ou hiperplasia cordonal de células da granulosa, corpo lúteo cístico, cistos foliculares, adenoma e cistadenoma ovariano, disgerminoma, tumor de células da granulosa.

As alterações histopatológicas no útero de 88 cadelas compreenderam cistos endometriais ou miometriais isolados, adenomiose, hiperplasia endometrial cística ou não, complexo hiperplasia endometrial cística-piometra, endometrite, hemorragia endometrial, hemometra, hidrometra ou mucometra e leiomioma.

As alterações histopatológicas em mamas compreenderam hiperplasia mamária, adenoma mamário, tumor misto benigno de mama, carcinoma em tumor misto de mama, carcinoma tubular, carcinoma papilar, carcinoma sólido, carcinosarcoma e osteossarcoma primário de mama.

O Gráfico 1 representa a frequência das três alterações histopatológicas mais observadas neste estudo: cistos de estruturas epiteliais subsuperficiais, hiperplasia de rede ovariana e tumor de células da granulosa.



Gráfico 1 - Frequência das principais alterações histopatológicas nos ovários de 88 cadelas.

Os tumores de células da granulosa podem ter suas células neoplásicas proliferando em diversos padrões. Nesse estudo, verificou-se a proliferação de células da granulosa neoplásicas de forma difusa ou focal, variando de padrão folicular, padrão sertoliforme ou em ninhos, com a formação de corpúsculos de Call Exner em alguns casos.

Das cadelas com tumorações de glândula mamária, 42,8% (30/70) apresentavam lesões ovarianas categorizadas na literatura como produtoras de hormônio e lesões ovarianas não produtoras, enquanto 57,14% (40/70) apresentavam somente lesões ovarianas não produtoras de hormônio.

O teste de Qui-quadrado de Pearson aplicado a fim de verificar a associação das alterações ovarianas com as alterações uterinas e mamas não revelou significância

estatística ($p > 0,05$), nem tendência à associação ($p > 0,06$) entre a ocorrência das alterações produtoras de hormônio e as alterações uterinas ou mamas.

CONCLUSÕES: A média de idade das cadelas com alterações histopatológicas ovarianas correspondeu a 10,5 anos (3 a 15 anos).

Cadelas adultas a idosas apresentam diversas alterações ovarianas de origem nas células epiteliais, foliculares, intersticiais e germinativas.

As lesões predominantes nos ovários de cadelas foram os cistos de estruturas epiteliais subsuperficiais, seguido de hiperplasia da rede ovariana.

O tumor de células da granulosa foi a neoplasia ovariana predominante nos ovários das cadelas. Os tumores de células da granulosa em cadelas também podem apresentar a formação de corpúsculos de Call-Exner.

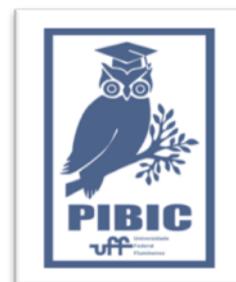
Em relação ao útero, o tumor de células da granulosa dos ovários ocorreu de forma frequente em conjunto com hiperplasia endometrial cística ou não e piometra.

Cadelas com alterações ovarianas não produtoras de hormônio podem apresentar neoplasias mamas, incluindo carcinomas, da mesma forma que cadelas com alterações ovarianas que produzem hormônios.

Referências bibliográficas:

- ARLT S.P; HAIMERL P. Cystic ovaries and ovarian neoplasia in the female dog – a systematic review. *Reproduc. Dom. Anim.*, v.51, Suppl. 1, p.3-11, 2016.
- JOHNSTON, S.D.; KUSTRIZ, M.V.; OLSON, P.N.S. Disorders of the canine ovary. In S.D.Johnston, M. V. Kustriz & P. N. S. Olson (Eds.), *Canine and feline theriogenology* (p. 193-205). Philadelphia: WB Saunders, 2001.
- SHLAFFER, D.H; FOSTER, R.A. Female Genital System. In: MAXIE, G, Jubb, Kennedy & Palmer's *Pathology of domestic animals*. 3th ed. Canada: Elsevier. Cap 4. P. 371-375. 2015.

Agradecimentos: A Propri / UFF pelo auxílio concedido, ao Setor de Anatomia Patológica Veterinária / UFF pelo acolhimento, ao Hospital Universitário de Medicina Veterinária Professor Firmino Mársico Filho / UFF e à professora Marcela Freire Vallim de Mello pela oportunidade e atenção.





Grande área do conhecimento: 5.00.00.00-4 – Ciências Agrárias

Título do Projeto: Auxílio ao diagnóstico clínico da doença articular degenerativa felina

Autores: Julia Telles Nabuco de Araujo; Flavya Mendes-de-Almeida (orientadora)

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Patologia e Clínica Veterinária / Faculdade de Veterinária

INTRODUÇÃO:

A doença articular degenerativa felina (DADF) é um processo não inflamatório, progressivo que acomete as articulações sinoviais, geralmente levando à redução do movimento e manifestação dolorosa. A DADF é frequentemente subdiagnosticada na população de gatos idosos (11 a 14 anos) ou geriátricos (acima de 15 anos), uma vez que os tutores tendem a considerar os sinais clínicos manifestados por seus animais como sendo sinais normais que acompanham o processo de envelhecimento. As manifestações clínicas apresentadas pelos gatos com doença articular são sutis e comumente observadas como alterações comportamentais. Além disso, na maioria das vezes, os achados radiográficos não condizem com os sinais clínicos, tornando o diagnóstico da DADF um desafio. Por conta disso, a observação de alterações no comportamento e no estilo de vida dos animais deve ser analisada, já que essas mudanças podem indicar redução da mobilidade gerada pela presença de dor ou desconforto articular. Assim, sabendo-se da dificuldade de diagnosticar precoce e corretamente essa doença, elaborou-se um questionário aplicado aos tutores dos gatos, que continha perguntas sobre as alterações comportamentais ou de manejo que pudessem estar associadas à presença de DADF em gatos domésticos com idade acima de 11 anos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram incluídos no estudo um total de 57 gatos domésticos de estilo de vida confinado, independentemente de sexo ou raça,

cl clinicamente saudáveis e com idade igual ou superior a 11 anos. Dentre eles, 59,6% (34/57) eram fêmeas e 40,4% (23/57) machos, sendo 68,4% (39/57) idosos e 31,6% (18/57) geriátricos. Aproximadamente 31,6% dos gatos apresentavam alguma doença previamente diagnosticada, dentre elas, a mais frequente foi a doença renal crônica, correspondendo a 28%. Dos 57 animais, 50,9% (29/57) tiveram mudança no peso corporal; nenhum apresentava histórico familiar confirmado de doenças musculoesqueléticas e um gato tinha coxartrose previamente diagnosticada. Segundo o relato dos tutores, 78,9% (45/57) encontravam-se menos ativos ou passavam mais tempo descansando; 43,9% (26/57) dos animais estavam arranhando menos frequentemente as superfícies ou utilizando seus arranhadores; 64,9% (37/57) estavam brincando menos; 29,8% (17/57) apresentavam um andar mais rígido; 49,1% (28/57) saltavam com “menor elegância” e 12,3% (7/57) demonstravam claudicação ao se movimentar, um sinal clínico evidente de manifestação dolorosa da doença articular em cães, mas que não fora observado pelos tutores dos gatos de forma significativa. Ao se comparar os animais idosos com os geriátricos, observou-se que as alterações mais frequentes e significativas foram observadas nos gatos geriátricos: subir e/ou descer as escadas ($\chi^2=9,50$; $p=0,002$), dificuldade para pular da / para cama / sofá / colo do tutor ($\chi^2=19,08$; $p=0,0001$), escalar árvores e muros ($\chi^2=6,24$; $p=0,0124$), dificuldade ao tentar brincar ($\chi^2=3,53$; $p=0,06010$), saltar com menos elegância ($\chi^2=6,04$; $p=0,01399$), presença de pelos mais emaranhados e com aspecto diferente ($\chi^2=4,31$; $p=0,02167$) e redução no apetite ($\chi^2=8,72$; $p=0,00315$). Uma vez que

todos esses parâmetros são considerados como possíveis manifestações clínicas de DADF, é de se supor que os gatos geriátricos incluídos no estudo possivelmente já apresentavam sinais compatíveis com DADF, mesmo que em diferentes graus de gravidade. O único parâmetro avaliado onde não se observou diferença estatística entre gatos idosos e geriátricos foi em relação à mudança no aspecto dos pelos / menos “grooming” ($\chi^2=2,28$; $p=0,1307$), indicando que a redução no tempo gasto com os cuidados da pelagem ocorre de forma semelhante entre gatos idosos e geriátricos. Dentre as alterações de comportamento presentes na população de gatos idosos e geriátricos, as que ocorreram em mais de 50% dos animais foram a permanência de mais tempo descansando e a menor vontade de brincar, entretanto, esses sinais são comumente observados na população felina idosa ou geriátrica e devem ser considerados como manifestação natural do processo de envelhecimento. Outras alterações como a dificuldade em cobrir as fezes, a diminuição na frequência em que o animal ronronava e o aspecto emaranhado dos pelos ocorreram em menos de 20% da população estudada.

CONCLUSÕES:

A maioria dos animais apresentou pelo menos uma alteração de comportamento ou mudança de manejo ambiental sugestiva de DADF. Dentre os animais geriátricos, a frequência das manifestações clínicas possivelmente associadas à DADF foram estatisticamente significativas se comparadas aos gatos idosos. Dessa forma, a avaliação clínica de gatos com idade acima de 11 anos deve incluir a investigação dos principais sinais comportamentais que podem indicar a presença de DADF, a fim de possibilitar o diagnóstico precoce da afecção e a instituição de medidas terapêuticas adequadas que garantam qualidade de vida e bem-estar aos animais idosos e geriátricos.

Agradecimentos:

À PROPI / UFF pela concessão da bolsa discente;
Aos tutores dos gatos domésticos pela colaboração em participar da pesquisa.

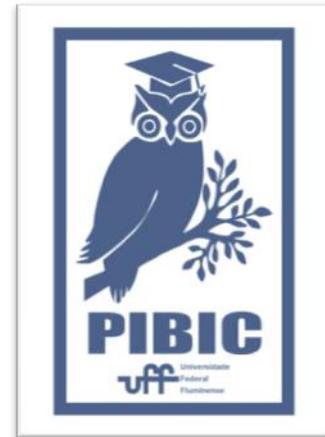


Figure 1: Logo PIBIC



CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AVALIAÇÃO CLÍNICO-CIRÚRGICA E ANATOMO-PATOLÓGICA DE ALTERAÇÕES DE ÚTERO E OVÁRIOS EM CADELAS PORTADORAS DE NEOPLASIA MAMÁRIA

Autores: VIEIRA, F. M.; SCALZILLI, B. L.; MAUÉS, T.; DEGANI, V. A. N.; FERREIRA, M.L.G.

Departamento de Patologia e Clínica Veterinária / Faculdade de Veterinária / Hospital Universitário de Medicina Veterinária Professor Firmino Mársico Filho

INTRODUÇÃO:

As neoplasias mamárias são os tumores mais frequentes em cadelas, representando cerca de 50 a 70% de todas as neoplasias nessa espécie, constituindo um problema de grande impacto na Medicina Veterinária. Estima-se que no Brasil, a incidência de tumores malignos em cadelas seja superior a 70% dos tumores mamários (OLIVEIRA et al, 2003; FILHO et al, 2010). Essa enfermidade acomete principalmente fêmeas caninas de meia idade a idosas com faixa etária entre 7 e 12 anos. (De Nardi et al. 2016)

A hipótese de que alguns hormônios aumentam a incidência das neoplasias foi postulada pela primeira vez por Bittner et al. (1948). O estrógeno, a prolactina (Deng; Brodie, 2001), e a progesterona podem estar relacionados com neoplasias mamárias. O estrógeno e a progesterona por serem necessários para o desenvolvimento e a maturação natural da glândula, têm efeito mitogênico sobre o epitélio das células mamárias e induzem proliferação do epitélio ductal intralobular e desenvolvimento dos ductos e lóbulos que resultam no crescimento das glândulas mamárias, apresentando uma importante influência na carcinogênese dos tumores mamários (De Nardi et al. 2016).

Alguns autores associam as neoplasias mamárias a desordens endócrinas decorrentes de cistos foliculares e tumores de células da granulosa (TCG) (Johnston, 1998), além de outros fatores como hiperplasia endometrial (Moulton, 1990), pseudogestação, nuliparidade, obesidade e utilização de progestágenos (MOL et al., 1997). Em cadelas com tumor de células da granulosa, é comum ocorrer hiperplasia cística endometrial e piometrite, enquanto cadelas com cisto folicular podem apresentar ninfomania ou irregularidade do ciclo estral, hiperplasia cística de endométrio e hiperplasia

ou neoplasia mamária. (Nascimento; Santos, 2003).

Dessa forma acredita-se que a ovariossalpingohisterectomia (OSH) realizada antes do primeiro estro reduz o risco de desenvolvimento da neoplasia mamária para 0,5%; nas fêmeas esterilizadas após o primeiro ciclo estral ainda reduz-se o risco para 8,0% e a OSH em cadelas após o terceiro estro esse fator de proteção não é tão eficiente (EWEN; WITHROW, 1996).

Frente ao exposto podemos afirmar que os hormônios sexuais endógenos e exógenos tem função importante no desenvolvimento de enfermidades mamárias, dentre elas as neoplasias mamárias.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram selecionadas para o estudo, 119 cadelas inteira portadoras de neoplasia mamária.

Alenza et al. (2000) relatou que os animais de raça pura apresentaram predisposição maior para desenvolver neoplasia mamária. A frequência de cadelas de raça pura foi de 72,27 (86) e a frequência de cadelas sem raça definida foi de 27,73% (23). Dentre as cadelas de raça pura, a maioria foram animais da raça Poodle com 20,17% (24).

A idade das cadelas variou de 3 a 16 anos, sendo 81 (68,06%) com idade entre 5 e 10 anos, e 38 (31,93%) com idade entre 11 e 16 anos. Sendo assim, animais com maior acometimentos neoplásicos são os de meia idade a idosos em concordância com De Nardi et al. 2016.

Quanto ao uso de anticoncepcionais, 83,19% (99) dos animais nunca utilizaram, 4,59% (5) receberam pelo menos uma vez, e 13,76% (15) não tinham informações sobre. Todas as cadelas que sofreram administração de anticoncepcionais

apresentaram neoplasias malignas, em concordância com MOL et al. (1997)

De acordo com Fergusson (1985) 40% dos tumores mamários são adenocarcinomas, 50% são carcinomas mistos e 10% são de outro tipo histológico. Dentre as neoplasias malignas mais frequentes, o carcinoma em tumor misto apresentou maior incidência, com 61,34% (73), seguido do carcinoma papilar com 12,6% (15), carcinosarcoma com 8,4% (10) e carcinoma tubular com 6,72% (8) Neste estudo, foi possível observar 97,75% (87) das cadelas com alterações uterinas e ovarianas.

As alterações uterinas apareceram em 81,51% (97) das cadelas. A hiperplasia endometrial cística foi a alteração uterina mais frequente, com 52,1% (62) dos animais, seguido da hiperplasia endometrial com 18,48% (22), adenomiose com 4,2% (5), leiomioma com 5,504 (6), cistos endometriais com 4,2% (5), hidrometra com 2,52% (3), mucometra com 2,52% (3) e piometra com 1,68% (2). Todas as cadelas com lesões mamárias não neoplásicas e cadelas com neoplasias benignas tiveram apenas hiperplasia endometrial cística e não cística. Já nas portadoras de neoplasias mamárias malignas foram observadas em todas as alterações uterinas citadas. Neste estudo, 100% das cadelas com piometra e 66,66% das cadelas com mucometra apresentaram hiperplasia endometrial cística (HEC), em concordância com Oliveira et al, 2008, que sugerem que a piometra é precedida da HEC.

As alterações ovarianas foram observadas em 84,87% (101) dos animais. Foram observados 68,06% (81) de cistos, 43,7% (52) de hiperplasias e 38,7% (46) de neoplasias. Dentre os cistos mais frequentes, 54,88%(45) cistos de estruturas subepiteliais, 25,61%(21) cistos de ductos e túbulos mesonéfricos e 19,51%(16) cistos foliculares. Dentre as hiperplasias, 69,39% eram hiperplasia em rede ovariana, 14,29% hiperplasia cística em rede ovariana e 14,29% hiperplasia de células da granulosa. Dentre as neoplasias, 93,5% tumor de células da granulosa e 6,5% disgerminoma evidenciando uma frequência superior a frequência de TCG demonstrada no livro de De Nardi et al. (2016). Sendo que 36,13% dos animais apresentaram tumor das células da granulosa e 13,44% apresentaram cistos foliculares, alterações que podem estar associadas à neoplasia mamária em concordância com Johnston (1998).

O alto índice de alterações uterinas e ovarianas observadas nas cadelas portadoras

de neoplasia mamária neste estudo, valida a indicação da realização de ovariossalpingohisterectomia associada à mastectomia nestas pacientes.

CONCLUSÕES:

Cadelas portadoras de neoplasia mamária maligna apresentam alterações uterinas e ovarianas importantes.

A ovariossalpingohisterectomia é indicada em cadelas portadoras de neoplasia mamária.

Agradecimentos:

À PROPPI, ao Hospital Universitário de Medicina Veterinária Professor Firmino Marsico Filho e ao Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Veterinária da UFF.

Referências Bibliográficas:

- ALENZA P., PEÑA L., CASTILLO N. & NIETTO A.I. Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumors. *J. Small Anim. Pract.* 41:287-291. 2000
- BITTNER, J.J. The causes and control of mammary cancer in mice. *Harvey Lect*, v.42, p.221-246, 1948.
- JOHNTSTON, S. D. Oncologia do sistema reprodutivo. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. São Paulo: Ed. Manole, v. 2, 1998, p.2566 – 2582.
- DALECK, C. R.; DE NARDI A.B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2 ed. Rio de Janeiro: ROCA. 2016. p.726-755.
- DENG, C.; BRODIE, S.G. Knockout mouse models and mammary tumorigenesis. *Cancer Biol*, v.11, p.387-394, 2001
- FERGUSSON, H.R. Canine mammary gland tumors. *Vet Clin North Am*, v. 15, p. 501-11, 1985
- MOULTON, J. E. Tumors of the mammary gland. In: **Tumors in Domestic Animal**. 3 ed., Berkeley: University of California press, 1990, p. 518-552.
- MOL, J.A. et al. The role of progestins, insulin-like growth factor (IGF) and IGF-binding proteins in the normal and neoplastic mammary gland of the bitch: a review. *J Reprod Fertil*, v.51, p.339-344, 1997.
- OLIVEIRA, P.C; LOPES, M.D.; THOMÉ, H.E.; BALIEIRO, J.C.C. Avaliação citológica, histológica e hormonal de cadelas normais e com complexo hiperplasia endometrial cística/piometra. *Vet. Zootec.*, v.15, p.150-159, 2008
- OLIVEIRA FILHO J.C.O., KOMMERS G.D., MASUDA E.K., MARQUES B.M.F.P.P., FIGHERA R.A., IRIGOYEN L.F. & BARROS C.S.L. 2010. Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. *Pesq. Vet. Bras.* 30(2):177-185.





Grande área do conhecimento : Ciências Agrárias

Título do Projeto : EFEITO PROTETOR DO GUARANÁ (*Paullinia cupana*) SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR DE RATOS DIABÉTICOS

**Autores : Clara de Azevedo Dias - Bolsista
Mauricio Alves Chagas - Orientador**

**Departamento/Unidade/Laboratório - MMO - IB - Laboratório de
Biomorfologia Celular e Extracelular**

INTRODUÇÃO:

Segundo definição da Organização Mundial da saúde (OMS) Diabetes mellitus (DM) é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou incapacidade da insulina exercer adequadamente suas ações. É considerada uma enfermidade de caráter crônico caracterizada pela presença de altas concentrações glicêmicas, decorrentes aos distúrbios no metabolismo de lipídeos, carboidratos e proteínas ocasionados pela ausência ou deficiência na secreção de insulina pelas células β das ilhotas de Langerhans do pâncreas.

Os antioxidantes têm sido descritos como compostos eficazes no tratamento dos efeitos associados à diabetes, como demonstrado na nefropatia diabética. Nesse contexto, o guaraná (*Paullinia cupana*) vem sendo descrito como um agente antioxidante, possuindo compostos bioativos que agem diretamente no metabolismo corporal. A ação antioxidante do guaraná se deve, sobretudo, aos polifenóis presentes em sua composição. Entre os efeitos benéficos dos polifenóis destacam-se a neutralização de espécies oxidantes como o ânion superóxido e o radical hidroxila, a atividade enzimática, a inibição da proliferação celular, e seus efeitos antibióticos e antiinflamatórios. Os componentes do guaraná já mostraram potencial efeito benéfico sobre as doenças cardiovasculares, devido a sua capacidade de reduzir a oxidação de colesterol de baixa densidade e de atenuar processos inflamatórios.

Este estudo teve por objetivo avaliar os efeitos do guaraná sobre a histoarquitetura do coração e da artéria aorta de ratos Wistar com diabetes experimentalmente induzida. Além disso, visou avaliar as alterações

cardiovasculares, hematológicas e bioquímicas nesses animais.

Foram utilizados 28 animais *Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, linhagem Wistar, machos, com 340 ± 15 g de peso vivo que foram mantidos em gaiolas individuais no biotério de experimentação. Os ratos foram aleatoriamente divididos em 4 grupos experimentais:

Grupo Controle (GC): ratos alimentados com dieta padrão;

Grupo Diabético Controle (GDC): ratos com diabetes induzida pelo aloxano, submetidos à dieta padrão;

Grupo controle Guaraná (GCG): ratos alimentados com dieta padrão adicionada de guaraná;

Grupo Diabético Guaraná (GDG): ratos com diabetes induzida pelo aloxano e alimentados com dieta padrão adicionada de guaraná.

Foi avaliada a pressão arterial, bioquímica sérica e perfil hematológico, espessura da parede arterial e do miocárdio ventricular, Área total da luz e da parede vascular e avaliação do colágeno intersticial por método estereológico

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A análise dos lipídios séricos mostrou que a concentração de LDL Colesterol em GCG foi 33,27% maior do que em GC. Além disso, o HDL colesterol apresentou um aumento de 51,72% em GDG quando comparado ao GC e 57,59% quando comparado ao GCG.

Os níveis séricos de ALT do grupo GCG foram reduzidos em 30,31% (comparado a GC) e 41,64% (Comparado a GDC). Também foi observada redução de 29,47% deste parâmetro no grupo diabético guaraná, se comparado ao grupo diabético controle. A concentração da

transaminase AST se mostrou elevada (mais que 50%) no grupo GDC em comparação com os demais grupos.

Os grupos GDC e GDG apresentaram aumento significativo (mais que 53%) nos níveis séricos de uréia quando comparados a GC e GCG. Além disso, o grupo GDC apresentou valor médio de creatinina sérica aumentado (mais que 20%) em relação aos demais grupos. A proteína total sérica sofreu leve redução nos grupos diabéticos, se comparados aos grupos controle.

Os demais parâmetros da bioquímica sérica não apresentaram diferença significativa. Foi observado aumento do número de hemácias e hematócrito em GDC. Nos grupos diabéticos também foi observado aumento do volume corpuscular médio e no número de linfócitos. A concentração de hemoglobina se mostrou mais elevada no grupo GCG. Nos demais parâmetros não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

Foram observados menor espessura ($p < 0,0002$) e menor área ($p < 0,0192$) da parede da Aorta dos animais diabéticos, quando comparados aos animais controle, com e sem a adição do guaraná. A área luminal da Aorta não sofreu alterações em nenhum dos grupos testados ($p = 0,8059$). Foi observada redução significativa do número de lâminas elásticas na túnica média da Aorta dos animais do grupo diabético controle, quando comparada ao grupo controle ($p = 0,0194$). Os aspectos morfológicos da artéria aorta, dos grupos de animais testados (grupos controle e grupos Guaraná), estão demonstrados nas imagens obtidas por microscopia óptica dos cortes histológicos.

A análise do miocárdio do ventrículo esquerdo do coração dos animais testados mostrou que a espessura do miocárdio ventricular não sofreu alterações. No entanto, foi observado aumento significativo no percentual de fibras de colágeno no VE dos animais do grupo diabético controle.

CONCLUSÕES:

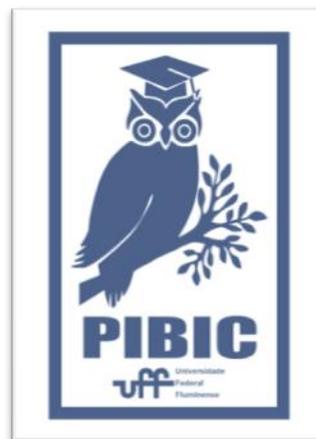
Concluimos através dos resultados deste trabalho que a suplementação de guaraná na dieta não influenciou na perda de massa corporal, na glicemia e na PAM dos ratos diabéticos.

Também concluimos que a suplementação de guaraná na dieta dos animais diabéticos baixou os níveis de ALT, AST e

Creatinina no soro desses animais, porém não alterou os padrões hematológicos.

A artéria aorta dos animais diabéticos apresentaram menor espessura e área quando comparadas com os animais controles, contudo, a área luminal não sofreu alterações.

Agradecimentos: Faperj





Lima da Costa.

Ciências Agrárias

Estudo fenotípico da resistência as cefalosporinas em cepas de *Escherichia coli* isoladas em aves e produtos avícolas no estado do Rio de Janeiro.

Gisllany Alves Costa, Hugo Peralva Lopes, Thomas Salles Dias, Leandro dos Santos Machado, Daniele Soares Fialho, Dayse

Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública- MSV/ Faculdade de veterinária/ Núcleo de Diagnóstico Avícola da UFF-NUDIAV

INTRODUÇÃO:

As cefalosporinas constituem uma classe de antimicrobianos que possuem em comum o anel beta-lactâmico. O principal mecanismo de resistência bacteriana a estes antimicrobianos é a produção de enzimas β -lactamases que hidrolizam o anel beta-lactâmico, fazendo com que este antimicrobiano perca a capacidade de inibir a síntese da parede celular bacteriana. As cefalosporinas são classificadas em gerações, de acordo com a ordem de desenvolvimento e espectro de ação. A ação e potência contra diversos microrganismos aumentam com a evolução das gerações. As cefalosporinas de 3ª geração são mais potentes contra bacilos Gram-negativos. As principais drogas que compõem esta geração são: Cefotaxima, Ceftazidima e Ceftriaxona. O Ceftiofur também faz parte desta geração sendo, porém, de uso exclusivo na medicina veterinária. A resistência a esses antimicrobianos emergiu rapidamente. As enzimas passaram a conferir espectro de hidrólise estendido às cefalosporinas de 3ª e 4ª gerações, sendo então denominadas beta-lactamases de espectro estendido (ESBL, do inglês *Extended Spectrum Beta-Lactamases*). As ESBL são prontamente inibidas pelos inibidores de betalactamases (ácido clavulâmico, tazobactan e sulbactan). Essa propriedade é usada em alguns testes fenotípicos para identificação de cepas bacterianas produtoras desta enzima. (D'AZEVEDO et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2009). Existe uma grande variedade de enzimas ESBL, o que pode dificultar a detecção destas enzimas por testes fenotípicos (PEREZ et al., 2007) Na avicultura, a prática de administrar ceftiofur junto a vacina de Marek, ainda nos incubatórios, tem sido associado ao aumento de *Escherichia coli* produtora de ESBL no trato intestinal de pintos de 1 dia (SARAIVA et al.,) *E.*

coli é um habitante normal da microbiota das aves e sua presença em produtos derivados é um marcador de contaminação fecal durante o processamento.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar, por meio do teste fenotípico de aproximação de disco, a presença de ESBLs em cepas de *E. coli* isoladas de frangos e carcaças. Foram usadas neste estudo 171 cepas de *E. coli*, armazenadas no laboratório de Sanidade Avícola da UFF. As cepas foram previamente reativadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) e submetidas ao teste de difusão em disco (CLSI, 2014), para seleção daquelas resistentes às cefalosporinas. Alíquotas provenientes das amostras reativadas foram semeadas em caldo Muller-Hinton (KASVI®) e incubados a 37°C até atingir a turvação correspondente ao padrão 0.5 da escala de Mc Farland. Alíquotas desse inóculo foram semeadas em ágar Muller-Hinton (KASVI®), com o auxílio de suabes esterilizados. Discos impregnados de antimicrobianos foram depositados sobre os inóculos, e as placas incubadas por 18h a 37°C. Para cada isolado de *E.coli* foram testados os seguintes antimicrobianos: ceftazidima (30µg), cefotaxima (30µg), ceftriaxona (30 µg) e ceftiofur (10µg), (CEFAR®). Os diâmetros dos halos de inibição foram medidos com o auxílio de um halômetro e as cepas foram classificadas como resistentes e intermediariamente resistentes (não susceptível) ou sensíveis, de acordo com as recomendações do CLSI (2014). Cada cepa resistente às cefalosporinas foi avaliada quanto à produção de ESBL pelo método de aproximação de disco, utilizando os seguintes antimicrobianos: Amoxicilina/Ácido Clavulânico (30 µg), Ceftazidima (30 µg), Cefotaxima (30 µg) e Ceftiofur(30 µg). Após incubação a 37°C por 24 horas, o aparecimento de uma distorção do halo

ao redor do disco β -lactâmico (“zona fantasma”) na cepa testada, representada pela inibição sinérgica entre os discos de Amoxicilina/Ácido clavulânico posicionado no centro da placa e os outros discos dispostos ao redor do disco central, indicava se tratar de uma produtora de ESBL.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Das 171 cepas estudadas 55 (32,16%) apresentaram susceptibilidade reduzida a pelo menos uma das cefalosporinas estudadas. Os maiores percentuais de resistência foram detectados para os antimicrobianos Ceftriaxona (CRO) e Cefotaxima (CTX) em ambas as fontes (tabela 1). Em cloaca 5,85% das cepas (10/171) foram resistentes à CRO e 7,0% (12/171) à CTX. Em carcaças 13,45% das cepas (23/171) foram resistentes à CRO 12,28% (21/171) à CTX. O uso de Ceftiofur tem sido frequente na avicultura e tem sido implicado com o aumento de resistência a este antimicrobiano (Saraiva et al., 2018). Apesar de seu uso frequente, nas cepas utilizadas neste estudo, o menor percentual de resistência ocorreu para este antimicrobiano. A origem das cepas isoladas não interferiu na frequência de resistência aos diferentes antimicrobianos estudados pelo teste de Fisher ($p < 0,05$). Das 55 cepas não susceptíveis às cefalosporinas 9 (16,36%) foram sensíveis ao efeito inibidor do ácido clavulânico, ou seja, foram confirmadas como cepas produtoras de ESBL, sendo duas de cloaca (8,7%) e sete de carcaça (21,9%). Não houve diferença entre as fontes estudadas pelo teste de Fisher ($p < 0,05$).

Tabela 1. Frequência de cepas resistentes a cefalosporinas em amostras de material cloacal (Clo) e carcaças (C) de frango de corte.

	CAZ		CRO		CTX		CTF	
	Clo	C	Clo	C	Clo	C	Clo	C
R	5	6	10	23	12	21	4	7
I	8	7	0	6	2	5	7	15

CAZ – Ceftazidina; - CRO - Ceftriaxona; CTX – Cefotaxima; CTF – Ceftiofur.

Tabela 2. Frequência de cepas produtoras de ESBL em amostras de material cloacal (Clo) de frango de corte e carcaças (C).

	ESBL +	ESBL -	Total
Clo	2	21	23
C	7	25	32
Total	9	46	55

O teste de aproximação de discos é um dos testes usados para a detecção fenotípica de cepas produtoras de ESBL. Estes testes variam de acordo com o agente bacteriano, tipo de teste, do antimicrobiano usado como substrato e com o tipo de enzima produzida (D'AZEVEDO, et al., 2004; PEREZ et al., 2007). Os Testes baseados na detecção de genes que codificam a produção de ESBL podem ser bastante conclusivos. No entanto, não estão disponíveis na maioria dos laboratórios (D'AZEVEDO, et al., 2004)

CONCLUSÕES:

Nas condições deste estudo foi possível confirmar a presença de cepas de *E.coli* produtoras de ESBL em frangos e carcaças.

REFERÊNCIAS

D'AZEVEDO, P.A.; GONÇALVES, A.L.S.; MUSSKOPF, M.I.; RAMOS, C.G.; DIAS, C.A.G. Laboratory tests in the detection of extended spectrum beta-lactamase production: National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) screening test, the E-test, the double disk confirmatory test, and ceftiofur susceptibility testing. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v.8, n.5, p.372-377, 2004;

OLIVEIRA, C. F. DE; FORNO, N. L. F. D.; ALVES, I. A.; HORTA, J. A.; RIEGER, A.; ALVES, S. H. Prevalência das famílias TEM, SHV e CTX-M de β -lactamases de espectro estendido em *Escherichia coli* e *Klebsiella spp* no Hospital Universitário de Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 42, n. 5, p. 556–560, out. 2009.

PEREZ, F.; ENDIMIANI, A.; HUJER, K.; BONOMO, R. The continuing challenge of ESBLs. *Current Opinion in Pharmacology*, v. 7, n. 5, p. 459–469, out. 2007.

SARAIVA, M. M. S.; MOREIRA FILHO, A. L. B.; FREITAS NETO, O. C.; SILVA, N. M. V.; GIVISIEZ, P. E. N.; GEBREYES, W. A.; OLIVEIRA, C. J. B. Off-label use of ceftiofur in one-day chicks triggers a short-term increase of ESBL-producing *E. coli* in the gut. *PLOS ONE*, v. 13, n. 9, p. e0203158, 11 set. 2018.

Agradecimentos:

A Proppi pelo apoio financeiro



Ciências Agrárias (5.00.00.00-4)

Análise do potencial de geração de biodiesel a partir de macrófitas de uma estação de tratamento de esgoto

Giselle de Souza da Fonseca, Juliana de Castro Silva de Souza, Flávio Castro da Silva, Dirlane de Fátima do Carmo.

Departamento de Engenharia Agrícola e Meio Ambiente/Escola de Engenharia/Laboratório de Máquinas Agrícolas

INTRODUÇÃO: As macrófitas são um dos exemplos de vegetação empregados nas Wetlands e possuem a finalidade de fazer a fitorremediação das águas, conseguindo remover até metais pesados como chumbo (Wolff et al, 2009), zinco (Wolff et al, 2009) e cromo III (Oliveira et al, 2015). São usadas também como bioindicadoras de águas com Arsênio (Oliveira et al, 2012). Porém, este tratamento produz uma grande quantidade de biomassa, (Biudes & Camargo et. al., 2007) uma vez que as plantas absorvem esses nutrientes para poder crescer e, como estes estão presentes em grandes volumes, as plantas se desenvolvem em ritmo acelerado, fazendo que tenha-se a necessidade de poda constante para não haver acúmulo e prejudicar a eficiência do tratamento e conseqüentemente a qualidade da água. O objetivo deste projeto é quantificar e analisar o teor lipídico do óleo proveniente das macrófitas *Salvinia auriculata* (*Salvinia*), *Cyperus comosus* (*Papirinho*) e *Cyperus giganteus* (*Papirão*) e também o perfil de ácidos graxos das mesmas, a fim de avaliar seu potencial como matéria prima na produção de biodiesel. Para isso, diferentes metodologias foram testadas com o intuito de obter o óleo sem que ocorressem perdas ou impurezas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A análise de umidade demonstrou que a *Salvinia* possui mais água que as demais macrófitas analisadas. Por meio da Figura 14 a seguir, fica evidenciado que as umidades variaram de 60,00 a 86,00%.

Todos os três métodos utilizados dispuseram de resultados distintos, podendo ser usado como fonte de comparação entre si.

O primeiro método testado, na qual utilizava como pré-tratamento o ultrassom e a amostra

macerada, obteve o resultado em torno de 4% de teor de óleo. Os resultados obtidos para o teor de lipídeos através do método de Bligh Dyer, sem o pré-tratamento e para amostra moída, foram de 6,24% para a *Salvinia Auriculata*, 2,60% para o *Cyperus comosus* (*Papirinho*) e de 3,03% para o *Cyperus giganteus* (*Papirão*). Através desses resultados, é possível afirmar que de fato o tamanho da partícula da planta influencia na extração.

No terceiro método testado, teve-se um resultado muito satisfatório, uma vez que foi possível extrair o óleo sem nenhuma modificação na sua característica física, como houve no método de Bligh Dyer modificado.

Porém encontrou-se dificuldades no momento do rotaevaporador, uma vez que o equipamento requer muita prudência visto que a solução de menor ponto de ebulição irá volatilizar primeiro. Neste caso, o hexano seria o primeiro a evaporar e logo depois, se deixado alguns segundos a mais, o óleo também.

Tabela 1: Quantidade de óleo (em g) obtida através do método de Daflon, 2016.

	Salvinia	Papirinho	Papirão
Quantidade média de óleo	0,2345	0,1942	0,075

Observou-se um pequeno problema na primeira amostra de *Salvinia* e por isso não foi feita a fase hexânica. Além disso, também não foi possível realizar a etapa hexânica na primeira amostra de *Papirinho* uma vez que não havia hexano suficiente. Em suma, ao total extraiu-se óleo de 2 amostras de cada espécie totalizando 6 amostras.

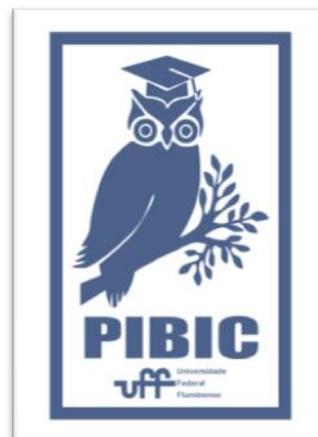
Percebe-se que os valores da segunda remessa, fresca e cortada em pedaços maiores, obteve valores superiores, com todas as espécies, comparada com os valores da primeira remessa com exceção apenas da primeira amostra de *Cyperus comosus*. Destaca-se que a primeira remessa foi utilizada material antigo e moído enquanto nessa nova foi apenas cortado e por causa disso não é possível fazer uma comparação mais aprimorada sobre as divergências nos resultados.

CONCLUSÕES:

Em suma, através da metodologia utilizando o ultrassom como pré tratamento obteve-se 4% de teor lipídico, no entanto ao mudar o método para extração a frio de Bligh & Dyer modificado encontrou-se 6,24% de teor lipídico na *Salvinia auriculata* (*Salvinia*), 2,60% na *Cyperus comosus* (*Papirinho*) e 3,03% na *Cyperus giganteus* (*Papiro*). Valores menores do que as oleaginosas que dão origem a maior parte do biodiesel produzido atualmente. No terceiro método, o resultado obtido foi em gramas. A *Salvinia Auriculata* foi a única que foi feita em triplicata encontrando-se 0,2857 g e 0,1833 g, uma vez que uma das amostras foi perdida no rotaevaporador. Já para o *Papirinho* e *Papirão*, encontrou-se 0,1942 g e 0,075 g, respectivamente. Além disso, é válido ressaltar os resultados das amostras da última remessa também foram obtidas em gramas, tendo valores de 1,18945 g e 0,44405 g para a *Salvinia Auriculata*, e 0,0725 g e 0,02089 g para o *Cyperus comosus* (*Papirinho*), e 0,3502 g e 0,1941 g para o *Cyperus giganteus* (*Papirão*).

Agradecimentos:

Os autores agradecem a todos que compõem a equipe de trabalho da Estação Águas de Juturnaíba (Grupo Águas do Brasil) que gentilmente cederam as macrófitas para que fosse possível realizar as análises e a condução do trabalho. Agradecemos também Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação (PROPPI) pela concessão da bolsa de Iniciação Científica a primeira autora.





Ciências agrárias

Avaliação do aspirado folicular para detecção do estado de portador de *Leptospira* sp. no trato reprodutivo em vacas naturalmente infectadas

Juliana de Souza Pedrosa, Lucas de Figueiredo Cardoso

Barbosa, Bruno Cabral, Maria Isabel Di Azevedo e Walter Lilenbaum

Departamento de Microbiologia e Parasitologia/Laboratório de Bacteriologia Veterinária

INTRODUÇÃO:

A leptospirose é uma zoonose infectocontagiosa de distribuição mundial. Apresenta grande impacto social, econômico e sanitário, reconhecida pela Organização Mundial de Saúde Animal e pela Sociedade Internacional de Leptospirose. Em bovinos, a frequência de morbidade pela doença clínica pode variar de 10% a 30%. A elevada frequência de abortamentos, podendo atingir até 30%, e a queda na produção de leite, são as principais causas de prejuízos ocasionados pela leptospirose (ADLER, 2015). Estudos mostram clara associação entre alterações reprodutivas e a infecção por leptospirose, principalmente por estirpes do sorogrupo Sejroe (PINTO et al., 2016; FÁVERO et al., 2017). No entanto, apesar da provável importância como um sítio extra-renal da infecção, poucos estudos abordaram a identificação dos animais carreadores do trato genital. A identificação de bovinos portadores de *Leptospira* sp. em amostras de aspirado folicular, torna-se importante, pois grande parte das perdas econômicas devido à morte embrionária, pode estar relacionada à infecção dos folículos ovarianos por leptospirose, o que poderia inviabilizar o oócito fecundado. Assim, o presente estudo teve como objetivo investigar a presença de DNA de leptospirose patogênicas no folículo ovariano de vacas não gestantes.

MATERIAL E METODOS:

O presente estudo foi aprovado no comitê local de ética no uso de animais (CEUA/UFF) sob protocolo nº 863/2016. Foram coletadas amostras de aspirado folicular dos ovários de 65 vacas, randomicamente selecionadas, não prenhes, provenientes de rebanhos de diferentes regiões do estado do Rio

de Janeiro, e destinadas ao abate em dois matadouros frigoríficos sob inspeção estadual e federal, um deles localizado em Juiz de Fora, MG e outro localizado em Bem Posta, RJ. Durante a evisceração dos animais, foi retirado o aparelho reprodutivo de onde foram coletadas as amostras de aspirado folicular por aspiração em seringas de 1ml com agulhas de 6 mm x 0,25 mm (31G). Todo o conteúdo dos folículos dos dois ovários da mesma vaca foi coletado e transferido para criotubos identificados, congelados (-20° C) e transportados para o Laboratório de Bacteriologia Veterinária da UFF (LABV).

O DNA leptospírico foi extraído pelo kit Wizard SV Genomic DNA Purification 497 System (Promega®, Madison, EUA). Primers específicos do gene lipL32, relatados como presentes em leptospirose patogênicas (Stoddard et al., 2009), foram utilizados para reações de PCR: LipL32-45 Forward (5' AAGCATTACCGCTTGTGGTG-3') e LipL32-286 Reverse (5' GAACTCCCATTTCAGCGATT-3'), amplificando um fragmento de 242 pb. Utilizou-se um volume de 25 µL de solução contendo: 300 µM de cada desoxinucleotídeo (Invitrogen, Carlsbad, EUA), 75 mM de TrisHCl, 50 mM de KCl, 20 mM de (NH₄)₂SO₄, 2,4 mM de MgCl₂, 1,5 µM de cada primer (Integrated DNATechnologies, Coralville, EUA), 5 U/µL Taq DNA polimerase (Promega®, Madison, EUA) e 3 µL de DNA molde.

Para cada conjunto de amostras, água ultrapura foi utilizada como controle negativo, enquanto 10fg de DNA extraído de *Leptospira interrogans* sorotipo Copenhageni cepa Fiocruz L1-130 usado como controle positivo. Todas as reações ocorreram no termociclador Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, EUA). Após uma desnaturação inicial a 94 °C por 5min, o perfil da PCR foi definido da seguinte forma: 30s de desnaturação a 94 °C,

30s de anelamento do primer a 53 °C e 1min de extensão do primer a 72 °C, com um total de 40 ciclos, com uma extensão final a 72°C durante 5min.

Após a reação de PCR as amostras e o padrão de peso molecular 1Kb DNA Ladder (Invitrogen, Life Technologies, São Paulo, Brasil) foram aplicados com GelRed™ em diluição de 1:500 em gel de agarose 1,5% e submetidos a eletroforese com 5v/cm² (110v por 45 minutos) em uma cuba horizontal (BioRad, São Paulo, Brasil) com tampão TAE 1x (40mM Tris-acetato e 1mM EDTA).

Os resultados obtidos foram analisados pelo software Bioestat® 5.3, aplicando estatística descritiva para a análise das amostras positivas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O presente estudo foi aprovado no comitê local de ética no uso de animais (CEUA/UFF) sob protocolo nº 863/2016. Foram coletadas amostras de aspirado folicular dos ovários de 65 vacas, randomicamente selecionadas, não prenhes, provenientes de rebanhos de diferentes regiões do estado do Rio de Janeiro, e destinadas ao abate em dois matadouros frigoríficos sob inspeção estadual e federal, um deles localizado em Juiz de Fora, MG e outro localizado em BemPosta, RJ. Durante a evisceração dos animais, foi retirado o aparelho reprodutivo de onde foram coletadas as amostras de aspirado folicular por aspiração em seringas de 1ml com agulhas de 6 mm x 0,25 mm (31G). Todo o conteúdo dos folículos dos dois ovários da mesma vaca foi coletado e transferido para criotubos identificados, congelados (-20° C) e transportados para o Laboratório de Bacteriologia Veterinária (LABV).

Das amostras obtidas, extraiu-se o DNA e os produtos da extração foram submetidos a PCR (Reação em cadeia da Polimerase) para a detecção do gene *lipL32*.

No total, 7/65 (10,8%) das amostras foram positivas para PCR, produzindo amplicons com o tamanho esperado, confirmando a presença de DNA de leptospiros patogênicas no interior do folículo ovariano destes animais. Este estudo demonstrou, pela primeira vez, a presença de *Leptospira* no ovário de fêmeas bovinas assintomáticas e naturalmente infectadas, o que indica a infecção precoce do oócito. Embora na leptospirose os mecanismos de patogenia envolvidos nos danos embrionários não sejam totalmente elucidados,

estudos demonstraram que, mesmo em sua forma crônica e silenciosa, a leptospirose está associada com perdas reprodutivas, particularmente a repetição de cio e perda embrionária. (LIBONATI et al., 2018).

CONCLUSÕES:

O presente estudo demonstrou que o folículo ovariano pode também ser infectado por leptospiros. Muito provavelmente a infecção ovariana contribui para o dano embrionário, levando a morte embrionária, falhas reprodutivas e, conseqüentemente, repetição de cio nos animais.



Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias

Efeito da ozonização sobre a contagem plaquetária no Plasma Rico em Plaquetas (PRP) de equinos sadios.

Ana Paula Alves Bassi; Stephania de Miranda Silva; Bianca Cascardo; Nayro Xavier de Alencar; Daniel Augusto Barroso Lessa.

Departamento de Patologia e Clínica Veterinária (MCV/UFF)/UFF – Faculdade de Veterinária/ Laboratório de

Pesquisa Clínica e Diagnóstico Molecular Prof. Marcílio Dias do Nascimento

INTRODUÇÃO:

O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) é um aglomerado plaquetário de fonte autógena rico em fatores de crescimento obtidos a partir da centrifugação de sangue total através de gradiente de densidade. Sua produção ocorre por meio da precipitação dos eritrócitos na parte inferior do tubo, na porção intermediária permanece o PRP, enquanto o plasma pobre em plaquetas (PPP) encontra-se na parte superior (NIXON, 2010).

Em cavalos, o PRP tem sido clinicamente utilizado para reparar diferentes lesões, tais como as ósseas (CARMONA e LÓPEZ, 2011), articulares, (PICHEREAU et al., 2014) e de tecidos moles (MAIA et al., 2009). Além de ser um produto com variadas propriedades terapêuticas, apresenta algumas características atrativas, como: coleta minimamente invasiva, preparação rápida e fácil, baixo custo de produção, boa eficácia clínica, e possui ainda a qualidade de ser um hemoderivado autógeno, o que minimiza o risco de rejeição (De Miranda, 2016).

Outra alternativa de tratamento economicamente viável é a ozonioterapia. O gás de ozônio sintético apresenta potente efeito bactericida, fungicida e viricida. São descritas várias formas de utilização da ozonioterapia, tais como o gás, água e óleos ozonizados (LAGE-MARQUES, 2008), bem como inúmeros métodos de administração, como por exemplo: via subcutânea (SC); intramuscular (IM); intra-articular; paravertebral; intra-discal; intracavitária (espaços peritonal e pleural); intravaginal; intrarectal; intrauretral; intravesical; uso tópico em técnicas de bagging e flushing; e auto-hemoterapia ozonizada (BOCCI, V. et al., 2011).

Nos equinos, a aplicação do ozônio já foi descrita no tratamento de habronemose, osteoartrite, tendinopatias, doenças isquêmicas, abdômen agudo, otites médias, laminites, feridas, analgesias, entre outros (PENIDO et al., 2010). Do mesmo modo, a ozonioterapia demonstrou resultados encorajadores no tratamento de amplo espectro de doenças virais e infecciosas, incluindo anemia infecciosa equina, abortos em infecção por clamídia, erliquiose e também para linfomas (BHATT, J. et al., 2016).

Segundo Nakao et al. (2009), no entanto, a ozonioterapia não pode ser utilizada em todas as doenças, pois apresenta toxicidade ao trato respiratório quando utilizada de forma direta, causando irritação das vias aéreas superiores. Em contrapartida, o sangue possui uma quantidade adequada de antioxidantes capaz de interagir com o ozônio de forma a debelar qualquer fator de toxicidade, desde que nas dosagens terapêuticas adequadas já pré-estabelecidas (BHATT, J. et al., 2016).

No intuito de uma futura aplicação clínica da reunião das propriedades de regeneração tecidual do PRP (angiogênese e quimiotaxia) e da ozonioterapia (em suas funções antimicrobiana, anti-inflamatória e diminuição da adesão plaquetária), é necessário primeiro avaliar o efeito da ozonização sobre a contagem plaquetária no Plasma Rico em Plaquetas (PRP) de equinos sadios - sendo esta, portanto, a finalidade do presente trabalho.

Para a confecção do mesmo foram utilizadas amostras de sangue venoso de 10 equinos atestados como clinicamente saudáveis, machos e fêmeas com idades entre 2 a 5 anos. Obteve-se 24mL de sangue de cada animal, por meio de 6 tubos com citrato de sódio

a 3,2% (com capacidade para 4mL por animal). Também foi coletada uma amostra de sangue em tubo EDTA para realização de hemograma e dosagem de fibrinogênio plasmático, bem como confecção de esfregaço para avaliação citológica diferencial.

O material foi levado para processamento em laboratório. O hemograma e a dosagem de fibrinogênio plasmático foram realizados conforme as técnicas descritas por Jain (1993). Para a confecção do PRP foi utilizado o protocolo preconizado por de Miranda (2018).

Uma vez pronto, o PRP foi dividido em dois grupos, ambos com amostras dos 10 animais. Um grupo permaneceu sem tratamento com gás ozônio (STO) e outro foi submetido ao tratamento (CTO). A ozonização do PRP foi executada por meio do equipamento OZONIC VET® conforme recomendação do fabricante, na concentração de 45 µg/mL e 2mL de volume em cada frasco contendo PRP.

Por fim, as contagens plaquetárias foram realizadas nos dois grupos, e os dados tabelados para avaliação estatística.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

À contagem de plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$), o grupo sem tratamento com gás ozônio (STO) obteve média de 805,2 e desvio padrão de 170,9989. O grupo com tratamento (CTO), por sua vez, obteve como média 93,6 e desvio padrão de 41,58579. As contagens assim como a média no grupo com tratamento pelo ozônio foram menores do que no sem tratamento.

Quanto à análise estatística, observou-se sobre o teste de distribuição, em ambos os casos, a verificação da normalidade. Dessa maneira, foi utilizado para análise paramétrica o teste t de Student. As variáveis foram tratadas como independentes. Assim, utilizou-se o teste de Levene para igualdade de variâncias e o teste t para igualdade de médias. Observou-se diferença significativa entre os grupos ($p < 0,001$).

CONCLUSÕES:

Após o processamento das amostras observou-se significativa diferença quantitativa entre os grupos STO e CTO. Esse fato indica duas hipóteses principais: uma seria a destruição das plaquetas ou de fatores de crescimento no material; a outra seria que

ocorreu a ativação plaquetária, a ser avaliada por análises qualitativas.

Dessa forma, o produto final após a ozonização não pode ser chamado de PRP, uma vez que a contagem plaquetária foi reduzida.

Em casos nos quais o PRP é de uso imediato, a ativação dos fatores de crescimento anterior a aplicação, por si só, não é considerada prejudicial ao método de tratamento. No entanto, coloca-se em questionamento se a aplicação de ozônio ao plasma rico em plaquetas não o transforma de modo a não ser possível chamá-lo dessa forma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ANITUA, et al. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost*, v.91, p.4-15, 2004.
- BHATT, J.; BHAT, A. R.; DHAMA, K.; AMARPAL. An overview of ozone therapy in equine - an emerging healthcare solution. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, v. 4, 2016. Disponível em: [http://jebas.org/Jou.Exp.Bio.Agr.Sci/Spl.Issue.EHIDZ16/10.18006_2016.4\(Spl-4-EHIDZ\).S203.S210.pdf](http://jebas.org/Jou.Exp.Bio.Agr.Sci/Spl.Issue.EHIDZ16/10.18006_2016.4(Spl-4-EHIDZ).S203.S210.pdf). Acesso em: 15 de março. 2018.
- BOCCI, V.; ZANARDI, I.; TRAVAGLI, V. Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. *Medical Gas Research*, v.1, p. 6-15, 2011.
- CARMONA, J. U.; LÓPEZ, C. Autologous platelet concentrates as a treatment for shoulder injury in a horse. *Journal of Equine Veterinary Science*, Wildomar, v. 31, n. 9, p. 506-510, 2011.
- CNA. Estudo do Complexo do Agronegócio Cavalos. Brasília: CNA, 2016
- DE MIRANDA, Ana Luisa Soares. Influência do anticoagulante na obtenção e criopreservação do plasma rico em plaquetas (PCR) em equinos e muare. 2016.
- GUERRA X.V., LIMONTA Y.N., CONTRERAS I.H., FREYRE R.L., RAMÍREZ A.M.P. Resultados de los costos en ozonoterapia. In: *Revista Cubana Enfermer*, 1999; p.104-108.

• GURLEY, B. Ozone: pharmaceutical sterilant of the future? in: journal of parenteral science and technology, v. 39, p. 256-261, 1985.

• HERNÁNDEZ O.; GONZÁLEZ, R. Ozonoterapia En Úlceras flebotáticasin: Rev Cubana Cir , 2001; v.40(2) p.123-129.

• HOFMANN, A. W. Report on the development of the chemical arts during the last the last ten years. The Chemical News, Ludgate Hill, v. 31, n. 778, p.65-109, jan. 1875. Disponível em: . Acesso em: 15 fev. 2017.

• JAIN, Nemi C. Essentials of veterinary hematology. 1993.

• LAGE-MARQUES, M., Estudo da ozonioterapia como contribuição para a odontologia veterinária. 2008. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

• LEITE, R. C. Ozonio, 1. Ed.- Curitiba: Corpo Mente Publicações, 1999. 138 P.

• MAIA, L.; SOUZA, M. V.; RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; OLIVEIRA, A. C.; ALVES, G. E. S.; BENJAMIN, L. A.; SILVA, Y. F. R. S.; ZANDIM, B. M.; MOREIRA, J. C. L. Platelet-Rich plasma in the treatment of induced tendinopathy in horses: histologic evaluation. Journal of Equine Veterinary Science, Wildomar, v. 29, n. 8, p. 618- 626, 2009.

• MARX, R. E. et al. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol, v.85, p.638-46, 1999

• MEHLMAN, M. A., BOREK C. Toxicity And Biochemical Mechanisms Of Ozone. In: Environmental Research, 1987, v. 42(1) p.36-53.

• NAKAO, A.; SUGIMOTO, R.; BILLIAR, T. R.; AND KENNETH R. M. Therapeutic antioxidant medical gas. Review article; In: Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, p. 1-13, 2009. Disponível em: Acesso em 01 de março de 2018.

• NIXON, A. J., Critical review of the clinical use of PRP and BMAC. In: Proceedings of the 15th Annual European ESVOT Congress - Bologna, Italy – 2010.

• OLIVEIRA, J. T. C., Revisão sistemática de literatura sobre o uso terapêutico do ozônio em feridas. 2007. 256 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

• PENIDO, B. R., LIMA, C. A., FERREIRA, L. F. L. Aplicações da ozonioterapia na clínica veterinária. PUBVET, Londrina, V. 4, N. 40, Ed. 145, Art. 978, 2010.

• PICHEREAU, F.; DÉCORY, M.; RAMOS, G. C. Autologous platelet concentrate as a treatment for horses with refractory fetlock osteoarthritis. Journal of Equine Veterinary Science, Wildomar, v. 34, n. 4, p. 489-493, 2014.

• PINO, E. R. et al. Aspectos de la ozonioterapia en pacientes con neuropatía periférica epidémica. Revista Cubana Enfermer, Cuba, v. 15, n. 2, p. 114-118, 1999.

Agradecimentos:

Ao grupo de pesquisa HIPIATRAS (CNPq/UFF);

Ao financiamento cedido pelo PIBIC(CNPq – UFF);

Ao corpo de funcionários do Laboratório de Pesquisa Clínica e Diagnóstico Molecular Prof. Marcílio Dias do Nascimento (UFF);

Ao grupo de trabalho do Manège Sansão.

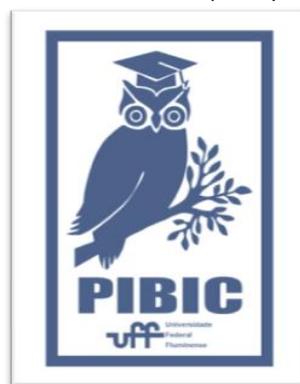


Figure 1: Logo PIBIC



Figure 2: Logo HIPIATRAS



CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE HER2 E TOP2A EM GLÂNDULAS MAMÁRIAS CANINAS TUMORAIS E NÃO TUMORAIS

Haiany Ana Martins Marques Raphael dos Santos; Franciele Basso Fernandes Silva; Juliana da Silva Leite; Ana Maria Reis Ferreira.

Setor de Anatomia Patológica Veterinária - Departamento de Patologia e Clínica Veterinária (MCV), Faculdade de Veterinária/UFF

INTRODUÇÃO: Os tumores mamários estão entre os mais comuns nos animais da espécie canina, representando 25 a 50% de todos os tumores documentados (MILLANTA et al., 2005).

O exame histopatológico é o método de eleição para identificar as características de uma neoplasia (MOTA & OLIVEIRA, 1999) e é considerado o método mais confiável para o diagnóstico de tumor de mama canino, uma vez que permite avaliar fatores como infiltração vascular, cutânea e de tecidos moles. Além disso, oferece dados como tipo histológico, grau de diferenciação, índice mitótico, presença de necrose (MISDORP et al., 1999).

Atualmente o estudo da expressão de marcadores prognósticos e preditivos do câncer de mama na mulher e em animais, pela técnica de imunohistoquímica, tem se revelado importante ferramenta de trabalho na rotina diagnóstica e de pesquisa. Através de estudos realizados sobre o desenvolvimento tumoral em canídeos e humanos foram observadas similaridades referentes ao comportamento biológico, aspectos histológicos, alvos moleculares e genética tumoral (KUMARAGURUPAN et al., 2006; PAOLONI et al., 2008; UVA et al., 2009), também constataram haver relação entre a sobre-expressão da proteína HER2, número de mitoses e maior grau histológico nas células tumorais (AHERN et al., 1996; de LAS MULAS, 2003).

As DNA topoisomerases são responsáveis pela abertura das fitas de DNA, e essas enzimas onipresentes desempenham papéis críticos em muitos processos biológicos envolvendo o DNA. A

topoisomerase 2A é necessária para a replicação do DNA e segregação cromossômica (Champoux JJ, 2001), e sua expressão é significativamente elevada nas células proliferativas e cancerígenas (Sandri MI, Hochhauser D, Aytonm P, Camplejohn RC, Whitehouse R, Turley H, et al., 1996), demonstrando associação com a disseminação neoplásica (SILVA, 2017).

No presente estudo, foi avaliada a expressão de TOP2 e sua relação com a avaliação da expressão de HER2 e o diagnóstico histopatológico. Desta forma, o projeto tem como objetivos: 1) Avaliar a expressão das proteínas receptoras do fator de crescimento epidérmico 2 (HER2) e da topoisomerase 2A (TOP2A) em glândulas mamárias caninas tumorais e não tumorais; 2) Comparar os resultados da avaliação imunohistoquímica, realizadas em microscópio óptico, referentes aos dois marcadores utilizados;

Palavras chave: tumor de mama, cão, imunohistoquímica, HER2, TOP2A.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram selecionados blocos de amostras de tecido mamário canino pertencentes ao acervo do Setor de Anatomia Patológica Veterinária/UFF e do Instituto Jorge Vaitsman. Em seguida, realizou-se reavaliação histopatológica dos cortes histológicos corados em HE e a classificação dos 10 tumores malignos e dos 10 tumores benignos foram feitas de acordo com a Organização Mundial de Saúde (MISDORP et al., 1999) e Consenso Brasileiro de Classificação de Tumores Mamários Caninos (CASSALI et al, 2014), expostas nos gráficos 1 e 2.

Gráfico 1: Avaliação Histopatológica – percentual de cada tipo tumoral encontrado na avaliação histopatológica das amostras de tumores malignos. Niterói.

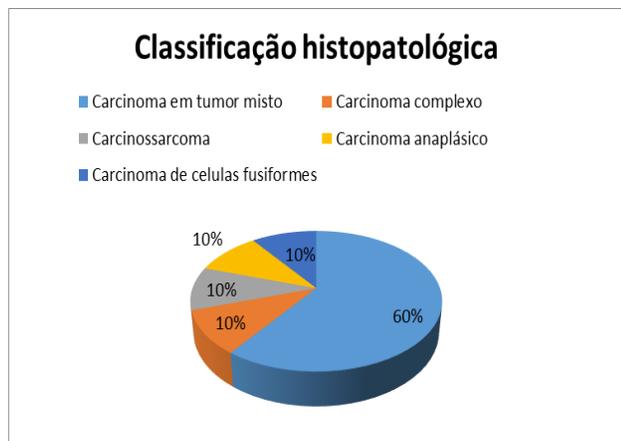


Gráfico 2: Avaliação Histopatológica – percentual de cada tipo tumoral benigno encontrado na avaliação histopatológica das amostras benignas. Niterói.



Após avaliação histopatológica de 10 amostras de neoplasias malignas e de 10 amostras benignas coradas pela hematoxilina-eosina, foi possível determinar os tipos histológicos presentes no estudo. O tipo tumoral maligno mais frequente foi o carcinoma em tumor misto e o benigno foi o tumor misto benigno. A classificação histológica dos tumores malignos e dos tumores benignos foi seguida pela técnica de imuno-histoquímica usando os anticorpos de expressão de HER2 o qual gerou resultados dispostos nas tabelas 1 e 2.

A coloração para HER2 foi observada de acordo com as recomendações da American Society of Clinical Oncology (ASCO), descritas por WOLFF et al. (2013)

Tabela 1: Relação da classificação histológica e imunomarcção com o anticorpo anti-HER2 e interpretação segundo ASCO/CAP em tumores benignos Niterói, 2017-2018.

Histopatológico	Score	ASCO/CAP
Adenoma complexo	1+	Negativo
Tumor misto benigno	3+	Positivo
Adenoma complexo	1+	Negativo
Adenoma simples	3+	Positivo
Tumor misto benigno	2+	Inconclusivo
Adenoma simples	3+	Positivo
Adenoma simples	3+	Positivo
Tumor misto benigno	2+	Inconclusivo
Tumor misto benigno	2+	Inconclusivo
Adenoma complexo	3+	Positivo

De acordo com a American Society of Clinical Oncology (ASCO/CAP), 50% dos tumores benignos avaliados foram positivos. Em relação aos tumores mistos benignos, 25% apresentaram-se positivos, sendo os demais 75% inconclusivos. Os casos de adenoma simples foram positivos; dois casos com o diagnóstico de adenoma complexo foram negativos e um caso apresentou-se positivo.

Tabela 2: Relação da classificação histológica e imunomarcção de tumores malignos com o anticorpo anti-HER2 e interpretação segundo o ASCO/CAP. Niterói, 2017-2018.

Histopatológico	Score	ASCO/CAP
Carcinoma complexo	2+	Inconclusivo
Carcinoma de células fusiformes	1+	Negativo
Carcinoma anaplásico	2+	Inconclusivo
Carcinoma em tumor misto	3+	Positivo
Carcinoma em tumor misto	2+	Inconclusivo
Carcinoma em tumor misto	3+	Positivo
Carcinoma em tumor misto	1+	Negativo
Carcinoma em tumor misto	3+	Positivo
Carcinossarcoma	3+	Positivo
Carcinoma em tumor misto	0	Negativo

De acordo com ASCO/CAP, 40% dos tumores malignos avaliados foram positivos. A proporção de positivos para o carcinoma em tumor misto foi 50%. Novamente, os casos de carcinoma complexo e carcinoma anaplásico foram inconclusivos no ASCO/CAP, bem como o carcinoma de células fusiformes foi considerado negativo, enquanto o carcinossarcoma obteve marcação positiva.

Quanto à avaliação da expressão de TOP2A, foram utilizadas as mesmas 10 amostras de neoplasias malignas e 10 amostras benignas coradas pela

eosina-hematoxilina. A classificação histológica dos tumores malignos e dos tumores benignos foi seguida pela técnica de imunohistoquímica usando os anticorpos de expressão de TOP2A, o qual gerou resultados dispostos nas tabelas 3 e 4, já correlacionando os resultados com os obtidos pela avaliação da marcação imunohistoquímica para HER:

Tabela 3: Relação entre classificação histológica, avaliação imunohistoquímica para HER2 e TOP2A de neoplasia mamária benigna

Amostra	Histopatológico	HER2 Score	Avaliação HER2 (ASCO/CAP)	TOP 2A Score	Avaliação TOP2A
1	Adenoma complexo	1+	Negativo	2+	Inconclusivo
2	TMB	3+	Positivo	1+	Negativo
3	Adenoma complexo	1+	Negativo	3+	Positivo
4	Adenoma simples	3+	Inconclusivo	0	Negativo
5	TMB	2+	Inconclusivo	0	Negativo
6	Adenoma simples	3+	Positivo	1+	Negativo
7	Adenoma simples	3+	Positivo	2+	Inconclusivo
8	TMB	2+	Inconclusivo	1+	Negativo
9	TMB	2+	Inconclusivo	2+	Inconclusivo
10	Adenoma complexo	3+	Positivo	1+	Negativo

Tabela 4: Relação entre classificação histológica, avaliação imunohistoquímica para HER2 e TOP2A de tumores malignos

Amostra	Histopatológico	HER2 Score	Avaliação HER2 (ASCO/CAP)	TOP 2A Score	Avaliação TOP2A
1	Carcinoma complexo	2+	Inconclusivo	3+	Positivo
2	Carcinoma de células fusiformes	1+	Negativo	0	Negativo
3	Carcinoma anaplásico	2+	Inconclusivo	2+	Inconclusivo
4	CTM	3+	Positivo	2+	Inconclusivo
5	CTM	2+	Inconclusivo	2+	Inconclusivo
6	CTM	3+	Positivo	3+	Positivo
7	CTM	1+	Negativo	2+	Inconclusivo
8	CTM	3+	Positivo	1+	Negativo
9	Carcinossarcoma	3+	Positivo	0	Negativo
10	CTM	0	Negativo	2+	Inconclusivo

Dentre os tumores benignos, houve 10% de concordância entre os resultados obtidos, sendo estes inconclusivos. Dentre os demais resultados discordantes, 33,3% (30% em relação ao total) são representados por resultados inconclusivos para HER2 e negativos para TOP2A; 33,3% (30% do total) apresentaram-se positivos para HER2 e negativos para TOP2A; 11,1% (10% do total) negativo para HER2 e inconclusivo para TOP2A; 11,1% (10% do total) negativo para HER2 e positivo para TOP2A; 11,1% (10% do total) positivo para HER2 e inconclusivo para TOP2A.

Já em relação aos tumores malignos, houve maiores semelhanças entre resultados: conforme

visto na tabela 4, 40% dos tumores malignos positivos para HER2 o são também para TOP2A; dentre os divergentes, 33,3% (20% do total) resultaram positivos para HER2 e negativos para TOP2A; 33,3% (20% do total) resultaram negativos para HER2 e inconclusivos para TOP2A e os 33,3% restantes divergiram entre inconclusivo para HER2 e positivo para TOP2A.

Além disso, 10% dos tumores benignos foram positivos para TOP2A, sendo 30% inconclusivos, e 20% dos malignos foram positivos, sendo 50% inconclusivos.

CONCLUSÕES: O tipo tumoral maligno mais frequente no presente estudo é o carcinoma em tumor misto e o tipo tumoral benigno é o tumor misto benigno.

São necessários maiores estudos para que se possa determinar o valor diagnóstico da presente técnica para tumores caninos, bem como buscar alternativas de automatizar a análise – como a partir da fotometria, por exemplo -, posto que, ao analisar a marcação imuno-histoquímica, um observador pode classificá-la de forma qualitativa (presente ou ausente) ou quantitativa (fraca, moderada, intensa). Porém, devido à heterogeneidade do tecido, com áreas onde a reação é intensa e outras com expressão fraca ou moderada do antígeno, a avaliação se torna subjetiva e deste modo, muitas vezes mais de um observador é necessário para a análise quantitativa confiável do material.

Conforme descreve NUNES et al (2007), o emprego da escala do ASCO/CAP (bem como do Herceptest, não considerada no estudo presente) possui variações de interpretação que dependem da qualidade técnica da reação, do tipo de anticorpo empregado e da experiência do examinador. Mesmo para um patologista treinado, a distinção nítida entre categorias nominais é difícil e geralmente arbitrária, e tem sido demonstrada falta de reprodutibilidade na determinação da superexpressão do HER2, principalmente das categorias intermediárias (1+ e 2+). A expressão diminuída ou ausente de ambas as proteínas estão

relacionadas às lesões não-neoplásicas e glândulas mamárias caninas sem lesão.

BIBLIOGRAFIA:

- AHERN, T.E.; BIRD, R.C.; BIRD, A.E.; WOLFE, L.G. Expression of the oncogene c-erbB-2 in canine mammary cancers and tumor-derived cell lines. *Am J Vet Res*; 57(5):693-6, 1996.

- DE LAS MULAS, M. J.; MILLÁN, Y.; DIOS, R.A. Prospective Analysis of Immunohistochemically Determined Estrogen Receptor and Progesterone Receptor Expression and Host and Tumor Factors as Predictors of Disease-free Period in Mammary Tumors of the Dog. *Vet Pathol*. 2005; 42:200-212.

- KUMARAGURUPARAN, R.; PRATHIBA, D.; NAGINI, S. Of humans and canines: Immunohistochemical analysis of PCNA, Bcl-2, p53, cytokeratin and ER in mammary tumours. *Res Vet Sci*. 2006;81(2):218-24.

- MILLANTA, F.; CALANDRELLA, M.; BARI, G.; NICCOLINI, M.; VANNOZZI, I.; POLI, A. Comparison of steroid receptor expression in normal, dysplastic, and neoplastic canine and feline mammary tissues. *Research in Veterinary Science*, v.79, p. 225-232, 2005.

- MISDORP, W.; ELSE, R. W.; HELLMÉN, E.; LIPSCOMB, T. P. Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, American Registry of Pathology and the World Health Organization Collaborating Center for Worldwide reference on Comparative Oncology, 1999. p.1-59.

- MOTA, E. F. F.; OLIVEIRA, S. R. Diagnóstico citológico em medicina veterinária. *Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG*, n. 30, n. 1, p. 29-47, 1999.

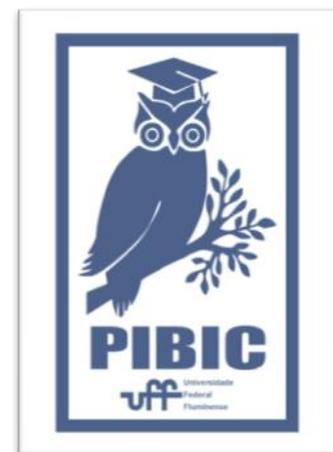
- PAOLONI, M.C.; KHANNA, C. Translation of new cancer treatments from pet dogs to humans. *Nat Rev Cancer*. 2008; 8(2):147-56. Review.

- QUEIROGA, F.; LOPES, C. Canine mammary tumours, research on new prognostic factors. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, Lisboa, v.97, p.119-127, 2002.

- RUTTEMAN, G. R.; WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. Tumors of the mammary gland. In: *Small animal clinical oncology*. 3 ed. Philadelphia: Saunders., 2001, p. 455-467.

- UVA, P.; AURISICCHIO, L.; WATTERS, J.; LOBODA, A.; KULKARNI, A.; CASTLE, J.; PALOMBO, F.; VITI, V.; MESITI, G.; ZAPPULLI, V.; MARCONATO, L.; ABRAMO, F.; CILIBERTO, G.; LAHM, A.; LA MONICA, N.; DE RINALDIS, E. Comparative expression pathway analysis of human and canine mammary tumors. *BMC Genomics*. 2009;27;10:135.

- ZUCCARI, D. A. P. C.; BERTON, C. R.; TERZIAN, A. C. B.; RUIZ, C. M. Fatores prognósticos e preditivos nas neoplasias mamárias - importância dos marcadores imuno-histoquímicos nas espécies humana e canina – estudo comparativo. *Arquivos de Ciências da Saúde*, São José do Rio Preto, v.5, n.4, p.189-198, 2008.





CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Avaliação da Eficácia dos Sanitizantes Utilizados na Higienização de Equipamentos e Utensílios em Unidade de Alimentação e Nutrição

Thaís da Costa Rodrigues, Nathália Guimarães Araújo Candela, Verônica Aiceles, Maria Carmela Kasnowski Holanda Duarte, Maria das Graças Gomes de Azevedo Medeiros e Robson Maia Franco

Departamento de Alimentos (MTA)/ Faculdade de Veterinária /
Laboratório de Controle Microbiológico de P.O.A.

INTRODUÇÃO:

As superfícies de equipamentos, utensílios e instalações de manipulação de alimentos podem servir como fonte de contaminação tanto por microrganismos potencialmente patogênicos para os seres humanos, quanto por deteriorantes que alterem as características sensoriais e nutricionais das matrizes alimentícias. Entre os procedimentos adotados na prevenção dessa contaminação é preconizada a correta higienização das superfícies. Por higienização compreende-se a operação que se divide em duas etapas: limpeza, para a remoção de resíduos de alimentos, e desinfecção das superfícies com o uso de agentes bactericidas ou bacteriostáticos para redução de microrganismos no nível que não comprometa a segurança do alimento (ANVISA,2003). Sendo assim, objetiva-se com a higienização, a preservação da qualidade microbiológica do alimento, por meio de controle e prevenção da formação de biofilmes, de maneira a se obter um produto que além das propriedades nutricionais e sensoriais, possua boa condição higiênico-sanitária, não oferecendo risco para a qualidade e segurança alimentar (ANDRADE,2008).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Na área de pré-preparo de carnes pôde-se observar alta contagem dos microrganismos nos dois horários de coleta, enquanto na área de cocção a caixa plástica, no final do processo produtivo posteriormente à higienização apresentou grande número de microrganismos fora do padrão. Para *Staphylococcus* coagulase positiva foram observadas 50% das amostras acima dos padrões recomendados de no máximo 100 UFC/cm², com ênfase para a área

de pré-preparo de carnes, que obteve todos os resultados com contagens acima dos padrões, com média de $7,01 \times 10^4$ UFC/cm² sendo todos positivos para produção de coagulase (DOWNES e ITO,2015). A presença de *Salmonella* spp. foi confirmada em todas as amostras da área de pré-preparo de carnes, após a última higienização do dia.

Percebeu-se uma contagem excessiva de coliformes totais nas amostras. Dentre essas, obtiveram contagens acima do padrão para coliformes a 45° e amostras positivas para a pesquisa de *Escherichia coli*. A pesquisa de *Enterococcus* obteve total conformidade com o padrão estabelecido. As maiores taxas de inconformidades foram encontradas nas análises de fungos e Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM). A área com maior contagem de fungos foi a de pré-preparo de carnes, seguida da área de cocção. Enquanto a CBHAM foi maior na área de cocção. Simultaneamente às análises, foram coletadas amostras da água utilizada na unidade de produção de refeições analisando-as para enumeração de coliformes a 35°C e a 45°C e todos os resultados negativos. Acontecimento que comprova que a água fornecida pela central de abastecimento é potável, ou seja, estão em condições higiênico-sanitárias apropriadas para utilização no processamento de alimentos.

Diante desses resultados verificar-se que os equipamentos e utensílios analisados podem ser armazenados inadequadamente, com ênfase nos equipamentos de moer carne, bancadas e ambiente devido à falta de exposição de procedimentos operacionais padronizados e ausência de cronogramas, registros e treinamentos para higienização adequada. Existe uma propensão à

contaminação cruzada por causa da ausência de padronização da higienização entre o pré-preparo de diferentes produtos cárneos e não-controle do binômio tempo x temperatura durante manipulação sendo diretamente ligado à condição microbiológica das superfícies da área, principalmente bancadas, facas e tábua. Nos utensílios, foram identificados pontos críticos de armazenamento inadequado, número insuficiente de caixas e tampos de polietileno com fissuras, biofilme e desgaste, além de não separarem caixas exclusivas para cada área. Na higienização do ambiente, a frequência inadequada de higienização e ausência de capacitação, registro e cronograma de higienização foram pontos críticos de controle.

Os microrganismos podem ser classificados pelo método de difusão em poços como: sensível quando o diâmetro do halo é maior ou não mais do que 3 mm a menos que a placa controle; moderadamente sensíveis, quando o halo é maior que 2 mm e menor que a placa controle mais de 3 mm; e resistentes com diâmetro de halo igual ou menor que 2 mm (KARAMAN et al,2003; SPRINGFIELD ET AL,2003; LIMA et al,2008). Como controle, utilizou-se uma placa sem inóculo e com as amostras das soluções nos poços.

As cepas analisadas mostraram-se todas resistentes à solução 1 pois, produziu halos de inibição com diâmetros abaixo do padrão para classificação de sensibilidade. Enquanto na solução 2, o único microrganismo classificado como sensível foi a *Salmonella* spp., uma vez que a solução produziu um halo inibitório satisfatório. *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foram consideradas resistentes à solução 2. O hipoclorito comercial utilizado ainda é mais eficaz no processo de inibição de *Salmonella* spp. do que a solução 1, entretanto é pouco utilizado, sendo o sanitizante mais utilizado nos utensílios e equipamentos o preparado pelos funcionários que consiste em misturar detergente, água e um pouco do hipoclorito (solução 1). Ele possui diluição extremamente alta, fazendo com que o hipoclorito (que já possui pouca eficácia) perca sua ação inibitória favorecendo o crescimento de microrganismos como *Salmonella* spp.

CONCLUSÕES:

Portanto, as condições higiênicas associadas à qualidade físico-funcional do restaurante universitário da UFF são insatisfatórias e precisam ser melhoradas por meio de treinamentos para os manipuladores,

um maior controle no processo produtivo das refeições afim de assegurar a qualidade microbiológica dos alimentos servidos para os consumidores, diminuindo a veiculação de agentes etiológicos de doenças alimentares. O ideal é que o sanitizante comercial utilizado no Restaurante Universitário da UFF seja trocado por um mais adequado, e a solução preparada com o mesmo seja padronizada afim de garantir maior eficácia na ação antimicrobiana.

Agradecimentos:

Primeiramente à Deus que esteve comigo durante todos os momentos, dando-me paz e sabedoria. À minha família e ao meu namorado, pelo apoio em minha formação e sonhos. À CNPq pela oportunidade e investimento na pesquisa. Aos meus orientadores, pessoas e profissionais incríveis com quem tive o prazer de aprender e desenvolver esse trabalho. Às minhas amigas e pesquisadoras Nathália e Verônica, com quem compartilhei minha trajetória acadêmica.



Referências:

1. BRASIL. ANVISA. RDC Nº 275, de 21 de outubro de 2002. Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. D.O.U.- Diário Oficial [da] União. Poder Executivo, Brasília, de 23 de outubro de 2003.
2. ANDRADE, N.J. Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de filmes bacterianos. São Paulo: Varela, 2008. 412p.

3. DOWNES, F.P.; ITO, K. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (A.-A. P. H. Association. Ed. 5 ed.). Washington, 2015.

4. KARAMAN, İ.; ŞAHİN, F.; GÜLLÜCE, M.; ÖĞÜTÇÜ, H.; ŞENGÜL, M.; ADIGÜZEL, A. Antimicrobial Activity of Aqueous and Methanol Extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *J Ethnopharmacol* v.85, 231-235, 2003.

5. SPRINGFIELD, E.P.; AMABEOKU, G.; WEITZ, F.; MABUSELA, W.; JOHNSON, Q. An Assessment of Two *Carpobrotus* Species Extracts as Potential Antimicrobial Agents. *Phytomedicine* v.10, 434-439, 2003.

6. LIMA, M.E.L. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Rev. Brasileira de Farmacognosia* .v.18, n.2, 301-307, 2008.

Lista de colaboradores:

Nathália Guimarães Araújo Candela- discente colaboradora

Verônica Aiceles- discente colaboradora

Maria Carmela Kasnowski Holanda Duarte- docente co-orientadora

Maria das Graças Gomes de Azevedo Medeiros- docente co-orientadora



Ciências Agrárias

Título do Projeto: Investigação da presença de *Bartonella* spp. e alterações hematológicas associadas em gambás (*Didelphis aurita* e *D. albiventris*) que habitam o Rio de Janeiro

Amanda de Oliveira Alcantara (Bolsista PIBIC), Hans Reuter Lima (Bolsista PIBIC), Rosemeri da Silva Teixeira, Helena Keiko

Toma, Aline Moreira de Souza (Orientadora)

Departamento de Patologia e Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Laboratório de Pesquisa Clínica e Diagnóstico Molecular Professor Marcílio Dias do Nascimento (LAMADIN)

INTRODUÇÃO:

Bartonella spp. é uma bactéria patogênica oportunista Gram negativa, encontrada em diversos mamíferos silvestres e domésticos. Gatos são considerados os principais reservatórios desta bactéria. Além disso, pode ser transmitida aos humanos, acarretando doença grave e morte, principalmente em imunocomprometidos.

Gambás são marsupiais da ordem Didelphimorphida, família Didelphidae, gênero *Didelphis* Linnaeus, 1758. A fragmentação de áreas de Mata, aliado a redução dos predadores naturais dos gambás e a grande adaptação ao ambiente urbano geraram o aumento crescente da população desses animais nas cidades e arredores. Os gambás são considerados uma das espécies de mamíferos silvestres com maior contato com humanos. Somado a isso, a presença de *Ctenocephalides felis*, principal ectoparasita envolvido na transmissão de *Bartonella* spp. entre gatos, foi observada em gambás no Rio de Janeiro.

O objetivo geral deste estudo foi a identificação molecular de *Bartonella* spp. em gambás (*Didelphis aurita* e *D. albiventris*) que habitam no Rio de Janeiro, bem como a avaliação hematológica dos animais, contribuindo para a vigilância dessa zoonose subestimada no Brasil e no mundo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram incluídos no estudo gambás de vida livre das espécies *D. aurita* e *D. albiventris*, independente de sexo, idade e estado clínico, recebidos no Centro de Resgate de Animais Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária

da Universidade Estácio de Sá (CRAS – UNESA) e na Clínica Doutor Silvestres. Os animais habitavam áreas do estado do Rio de Janeiro eram oriundos de apreensões e resgates realizados pelas autoridades ambientais. Foi estabelecido também uma colaboração com a Universidade de Vassouras, tendo sido doadas amostras de sangue total de animais provenientes da Mata Atlântica.

Foram coletadas amostras de sangue de 18 *D. aurita*, quatro adultos e 14 filhotes. Foram doadas 9 amostras de sangue de *D. albiventris*. Os animais não apresentavam sinais clínicos de doença ou ectoparasitas no momento da coleta. A venopunção foi realizada na veia caudal ventral em um único momento. Aproximadamente 0,25 a 1,0 mL de sangue foram coletados de cada animal, respeitando-se a proporção de até 10% do volume total de sangue, após contenção mecânica.

O hemograma foi realizado em 16 animais (*D. aurita*) utilizando-se técnicas manuais com microhematócrito, diluição e contagem celular em câmara de Neubauer e avaliação do esfregaço sanguíneo após coloração instantânea segundo Shalm et al (2000). A detecção molecular de *Bartonella* spp. foi realizada por meio de reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional. Para a extração do DNA das amostras de sangue total em EDTA foi utilizado kit comercial (ilustra blood genomicPrep Mini Spin Kit, GE Healthcare Life Sciences®) segundo as recomendações do fabricante. Para avaliar a eficácia da extração, foi feito a PCR para GAPDH, utilizando os iniciadores GAPDH-F e GAPDH-R. A presença do DNA bacteriano foi avaliada utilizando os iniciadores BhCS781p e BhCS1137n, cujo alvo é a enzima citrato sintase (gltA) para *Bartonella* spp.

Os resultados dos parâmetros hematológicos obtidos foram: hematócrito 35,6 ($\pm 5,0$) %, hemoglobinometria 8,5 ($\pm 2,1$) g/dL, hematimetria $4,2 \times 10^6$ ($\pm 0,71$) / μ L, leucometria global 9040,6 ($\pm 6269,1$) / μ L, basófilo 1,5 ($\pm 1,5$) %, eosinófilo 16,3 ($\pm 7,6$) %, neutrófilos totais 46,6 ($\pm 18,5$) %, linfócitos 3,0 ($\pm 2,0$) %, plaquetometria 321.625 (± 171.465) e proteínas plasmáticas totais (PPT) 6,0 ($\pm 1,2$) g/dl. Não foram encontrados *Bartonella* spp. ou hemoparasitos no esfregaço sanguíneo.

Os resultados foram similares aos de Moreira et al (2013) para todos os parâmetros (exceto plaquetas) e aos de Casagrande, et al. (2009), para leucócitos, linfócitos, monócitos e eosinófilos. Hematócrito, eritrócitos, basófilos e neutrófilos, foram superiores aos de Casagrande et al (2009). Já para PPT, a média encontrada foi inferior quando comparada aos demais autores.

Foi realizada a extração do DNA de 17 amostras sanguíneas (8 *D. aurita* e 9 *D. albiventris*). Uma amostra volume pequeno, sendo possível somente a realização do hemograma. Ao realizar a PCR para GAPDH verificou-se que 15 amostras foram positivas. As 15 amostras positivas para GAPDH foram submetidas a PCR para detecção de *Bartonella* spp convencional. Seis amostras de *D. aurita* foram positivas para *Bartonella* spp.

Embora tenha sido detectado a presença de *Bartonella* spp em outras espécies de mamíferos silvestres e ectoparasitas que parasitam esses hospedeiros silvestres, não foi descrito anteriormente a presença de *Bartonella* spp em *Didelphis* spp.

CONCLUSÕES:

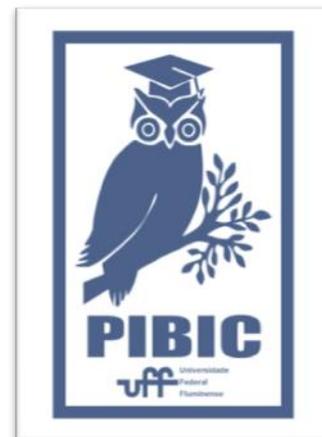
Neste projeto, foi possível a obtenção dos parâmetros hematológicos de gambás do Rio de Janeiro, que fornecem informações primordiais sobre a saúde desses animais, o que é de exímia importância, uma vez que essa espécie é frequente na clínica e reabilitação de animais silvestres. Contudo, é necessário a continuação do estudo, para atingirmos um número maior de amostras, para obtenção de parâmetros hematológicos representativos da população de *Didelphis* spp.

Esse é o primeiro relato da detecção de *Bartonella* spp. em gambás (*Didelphis aurita* e *Didelphis albiventris*) que habitam a Mata Atlântica do Rio de Janeiro. Isso ressalta a importância de estudos epidemiológicos para identificar a participação desta espécie animal

no ciclo silvestre/doméstico de Bartonelose. Esses marsupiais são frequentemente encontrados em ambientes peridomiciliares, sendo importante o monitoramento e investigação da Bartonelose e o papel dos gambás como reservatórios desta zoonose.

Agradecimentos:

A UFF pela bolsa concedida para realização do trabalho. Ao CNPq pela ajuda com reagentes e insumos.





Ciências Agrárias (5.00.00.00 – 4)

Adequação de embalagem para manutenção da qualidade de banana minimamente processada tendo revestimento ativo antioxidante à base de proteína de soro de leite

Jéssica Raquel Sales Carvalho de Souza¹; Nathália Ramos de Melo^{1,2}; Dayana Ketrin Silva Francisco Madella²; Joyce Fagundes Gomes Motta²;Filipe da Silva de Oliveira³; Livia de Aquino Garcia Moura^{1,2}

¹Departamento de Engenharia de Agronegócios – Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda – UFF/Laboratório Agroindustrial de Embalagem e Tecnologia (LAETec); ²UFRRJ –Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro;³UFLA-Universidade Federal de Lavras;

INTRODUÇÃO: Alimentos minimamente processados estão entre uma das principais tendências de consumo nos dias atuais, onde atende um mercado que demanda alta conveniência e se encontra normalmente concentrado em grandes centros urbanos.

Os vegetais minimamente processados sofrem alterações físicas como corte, descasque e fatiamento visando oferecer praticidade aos consumidores. No entanto, o processamento gera mudanças fisiológicas nos alimentos podendo acelerar o processo de deteriorização dos mesmos (Klugeet al.,2016).

Visando diminuir as perdas que ocorrem após o processamento e durante o armazenamento pesquisas são realizadas associando tecnologias para a manutenção da qualidade destes produtos.

Portanto este estudo busca verificar a conservação de bananas pratas minimamente processadas embaladas sob atmosfera modificada ou não, com o uso de tratamentos com revestimento a base da proteína do soro de leite e solução aquosa, ambas com antioxidantes.

As bananas foram adquiridas no mercado local da cidade de Volta Redonda–RJ padronizadas quanto à cor amarela, e ausência de danos mecânicos. Os frutos foram higienizados, descascados e cortados transversalmente, com auxílio de faca inoxidável, formando rodela com 1cm de espessura. Os tratamentos realizados constituem uma solução aquosa e o preparo do revestimento ativo a base de proteína de soro de leite (WPC) (6,0% m/m) e glicerol (2% m/m) segundo Amaral (2014), tendo ambos tratamentos a adição de 3,0% ácido cítrico (AC)

e 2,0% ácido ascórbico (AA). Após a imersão dos frutos na solução filmogênica, remoção do excesso e secagem em circulação de ar por 10 minutos, as bananas foram acondicionadas em embalagens de polietileno de baixa densidade (PEBD), com e sem atmosfera modificada (ATM) (vácuo) sob temperatura de $10 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 10 dias.

As análises realizadas compreenderam avaliações de coloração, sólidos solúveis ($^\circ\text{Brix}$), pH, acidez titulável, firmeza, perda de massa, teor de umidade e taxa de permeabilidade ao vapor de água. Aplicou-se regressão linear e o teste Scott-Knott a 5% de significância por meio do programa estatístico SISVAR[®].

RESULTADOS E DISCUSSÕES: Os resultados para a avaliação da cor indicaram que houve diferença significativa em relação aos tratamentos ao longo do período de armazenamento, onde os parâmetros "a*" ((-) vermelho – (+) verde), "b*" ((-) azul – (+) amarelo) e "L" (luminosidade), apresentaram os coeficientes de variação de 2,94%; 9,93%; 3,92%, respectivamente ($p < 0,05$).

Foi observado que o tratamento com solução aquosa sem ATM obteve maior efetividade para manutenção da cor desejável da fruta. A luminosidade, que indica quão claro ou escuro está o produto, não apresentou diferença estatística no período de 10 dias de armazenamento, variando entre os valores 77,17 e 73,67. Da mesma forma o chroma a* não diferenciou apresentando valores na faixa de 2,49 a 3,42. O parâmetro b* também apresentou resultado satisfatório, pois não houve diferença significativa, e, portanto, a

coloração amarela característica da banana, manteve-se constante para este tratamento.

Os demais tratamentos tenderam a diminuição das coordenadas L*, a* e b* apontando para o escurecimento dos frutos. Em concordância com este estudo, Pineli et al. (2005) verificaram que associação de tecnologias para armazenamento de vegetais pode ser uma alternativa viável e estável para manutenção das características sensoriais. Com a utilização da embalagem com ATM, batatas 'Ágata' fatiadas tratadas com ácido cítrico a 2% combinado com ácido eritrórbico a 3% apresentaram melhor eficiência contra o escurecimento do vegetal em 3 dias de armazenamento.

Em relação ao teor de sólidos solúveis não houve diferença significativa ($p > 0,05$), indicando assim um resultado favorável, pois o brix^o manteve-se constante comparado ao tempo inicial da amostra. O valor médio encontrado foi de 24,24°Brix.

Observou-se que a aplicação do revestimento ativo com ou sem ATM não influenciou os valores de firmeza, e ainda que, os tratamentos com solução aquosa sem ATM ($y = -0,066x + 1,29$; $R^2 = 0,67$) e com ATM ($y = -0,076x + 1,29$; $R^2 = 0,75$) foram os tratamentos que apresentaram, em módulo, maior velocidade na perda de firmeza ao longo do tempo, correspondendo ao avanço do amadurecimento da fruta, que causa amaciamento a polpa.

Para o parâmetro pH, observou-se que houve diferença significativa em relação aos tratamentos com antioxidantes, que mantiveram-se iguais estatisticamente e apresentaram valores menores, variando de 4,99 a 5,02, se diferenciando quando comparado aos tratamentos (controle) que apresentaram valores mais altos na faixa de 5,16 e 5,2. Com este resultado, é possível observar que a adição dos ácidos aos tratamentos influenciou nos valores obtidos para o pH e que a utilização da atmosfera modificada para esta análise não interferiu nos resultados encontrados. Segundo Braverman (1967) o pH influencia o escurecimento oxidativo dos tecidos vegetais. A diminuição do seu valor acarreta redução da velocidade de escurecimento do fruto. Este comportamento pode ser correlacionado aos resultados obtidos neste trabalho, onde os tratamentos com o uso de revestimento e solução aquosa apresentaram maior estabilidade na cor dos frutos e menores valores para o pH, demonstrando que aplicação dos antioxidantes tiveram efeito significativo para manutenção da cor das bananas. A acidez total

titulável (ATT) foi influenciada pelos fatores de tratamento e tempo de armazenamento onde o tratamento com solução aquosa sem ATM não apresentou diferenciação e o comportamento observado para os demais tratamentos foi inversamente proporcional ao do pH, ou seja diminuíram gradativamente. Em relação à perda de massa, observou-se a influência da aplicação da ATM que manteve os valores médios deste parâmetro menores quando comparados aos tratamentos realizados sem o uso do vácuo na embalagem, sendo respectivamente de 0,34% e 0,39%. Reis (2004) também observaram perda de massa mínima em bananas prata minimamente processadas que atingiu valor máximo de 0,13% em 4 dias de armazenamento a 5 °C.

Assim como para a perda de massa, foi observado que a utilização da atmosfera modificada pode ter colaborado para a manutenção da umidade, já que não apresentaram diferenciação durante todo o período avaliado, com exceção ao tratamento com solução aquosa que obteve maiores valores para o coeficiente angular da reta, em módulo, indicando que houve para estes casos maior velocidade na perda de umidade.

A taxa de permeabilidade ao vapor de água encontrada para a embalagem utilizada foi de $9,79 \times 10^{-4}$ g/dia.cm², indicando que o material plástico utilizado para o acondicionamento das bananas minimamente processadas apresenta alta barreira a umidade, dificultando trocas gasosas de vapor de água com o ambiente.

CONCLUSÃO: O tratamento com solução aquosa sem ATM demonstrou ser uma opção viável para manutenção das características físico-químicas de banana prata minimamente processada armazenadas a $10 \pm 2^\circ\text{C}$ por 10 dias.

AMARAL, D. P. do. Revestimento ativo antiescurecimento à base de proteína do soro de leite aplicado em maçãs minimamente processadas. 2014. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

BRAVERMAN, J. B. S. Introducción a la bioquímica de los alimentos. Barcelona: Omega, 1967. 355p. Cap.14

REIS, CMF et al. Qualidade e vida de prateleira de banana prata minimamente processada. **Ciência e agrotecnologia**, v. 28, n. 3, p. 702-708, 2004..

KLUGE, R. A. et al. Processamento Mínimo de Hortaliças: princípios e práticas: Série Produtor Rural. 1. ed. Piracicaba: Divisão de Biblioteca/ESALQ, 2016. 85 p.

AGRADECIMENTOS:

UFF, CNPq, Programa PIBIC, CAPES, UFRRJ, FAPERJ.



Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias

1. Título do Projeto: Uso de métodos moleculares na detecção de microrganismos da Classe Mollicutes em diferentes ectoparasitas de importância médico-veterinária

Autores: Nathalia Xavier da Silva, Julia Vignoli, Leandro dos Santos Machado, Elmiro Rosendo do Nascimento, Nathalie Costa da Cunha

Departamento/Unidade/Laboratório: Universidade Federal Fluminense/ Faculdade de Veterinária/ Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública/Laboratório de Epidemiologia Molecular

INTRODUÇÃO:

A Classe Mollicutes é composta por microrganismos que se destacam pela ausência de parede celular, sendo altamente dependentes de seu hospedeiro para sobreviver (THACHTENBERG, 2005). Além disso, essas bactérias possuem como característica um tamanho genômico reduzido de cerca de 200-350 nm, semelhante ao de grandes vírus. (RAZIN; TULY, 1996).

Os ectoparasitas possuem uma importância na medicina veterinária pois devido ao hábito de hematofagia e por passarem grande parte do ciclo de vida no hospedeiro são considerados importantes vetores de doenças. (OLIVEIRA, 2004; JONGEJAN e JONGEJAN e UILENBERG, 2004).

A associação entre microrganismos da Classe Mollicutes e ectoparasitas foram descritas desde o século XIX por Nocard & Roux (1898), sendo a associação do gênero *Mycoplasma* e os ácaros *Psoroptidae* e *Raillietidae* frequentemente relatada no conduto auditivo de rebanhos caprinos (COTTEW; YEATS, 1981, 1982). Apesar disso, pouco se sabe sobre essa relação desses microrganismos com ácaros encontrados em conduto auditivo e seu modo de transmissão (SANTOS, 2009).

Este projeto teve como objetivo geral detectar a presença de microrganismos da Classe Mollicutes em ectoparasitas de importância médico veterinária. Os objetivos específicos foram realizar a identificação taxonômica dos carrapatos, pulgas e ácaros coletados de caninos, felinos, equinos, ruminantes; Padronização de Reação da PCR para agentes da Classe Mollicutes; Detectar a presença de microrganismos da Classe Mollicutes nos ectoparasitas mencionados por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR); Realização de PCR específica para determinação das espécies de Mollicutes presentes dos ectoparasitas e analisar do sequências de nucleotídeos de amostras positivas na PCR.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Durante o desenvolvimento do projeto, 1038 ectoparasitas de oriundas dos projetos anteriores e coletados durante o desenvolvimento do estudo, foram identificadas, dentre as espécies *Rhipicephalus sanguineus* (n=488), *R. microplus* (n=116), *Amblyomma sculptum* (n=77), *A. ovale* (n=5), *A. glayi* (n= 6), *Dermacentor nitens* (n=64), *Ctenocephalides felis* (n=207) e *Ctenocephalides canis* (n= 75)

Além disso, amostras positivas foram processadas pela técnica de clonagem molecular sendo posteriormente analisado pela

técnica de sequenciamento molecular para a confirmação e serão usadas com a continuação do projeto para análises moleculares de hemoparasitas de importância Médica -Veterinária.

Durante a realização do projeto, um novo protocolo foi padronizado com testes utilizando diferentes concentrações de Mg_2CL_2 , importante cofactor para o funcionamento da enzima Taq Polimerase. Essas reações foram testado em controles positivos precedentes da reação de clonagem molecular, além das amostras coletadas a campo.

Para o diagnostico molecular desses microrganismos, o protocolo padronizado possui a seguinte seguinte reação 15,2 μL de água ultrapura (Milli-Q), 2,5 μL de Tampão PCR 10X, 1,0 μL $MgCl_2$ (2 mM), 0,5 μL dNTP 0,2 mM, 0,2 μL de cada "primer" (Quadro 2) , em tampão TE, 0,3 μL de Taq DNA Polimerase (5U/ μL) e 5 μL do DNA extraído, obtendo-se ao final um volume de 25 μL . A PCR patronizada possui as seguintes condições: 95°C por 5 minutos, seguido de 55 ciclos de desnaturação a 94°C por 15 segundos, anelamento a 68 °C por 10 segundos e extensão a 72°C por 15 segundos, por fim um ciclo de 72°C por 30 segundos terminando assim a reação.

CONCLUSÕES:

Como a relação entre ectoparasitas e a transmissibilidade de microrganismos da Classe Mollicutes e hemoparasitas, ainda não está bem estabelecida, torna-se necessário estudos através do diagnóstico molecular com diferentes metodologias para obtenção de mais informações sobre essa associação, além disso, é de extrema importância a padronização de diferentes protocolos para auxiliar o diagnóstico molecular das patologias associadas a esses microrganismos e aos futuros projetos de pesquisa, visto que a Classe Mollicutes possui importância Médico- Veterinária.

A intenção ao desenvolver o projeto foi o aperfeiçoamento do diagnostico molecular de *Mycoplasma* spp. utilizando amostras de ectoparasitas e controles positivos coletados em campo. Em anos anteriores conseguimos demonstrar através da utilização de técnica de PCR a presença microrganismos da Classe Mollicutes nas amostras coletadas. Nesse

projeto utilizamos a técnica de clonagem molecular para realização de isolamento de fragmento de DNA das amostras processadas, obtenção de amostras de DNA específicos para sequenciamento e posterior criação de banco de DNA de amostras positivas. Além disso, padronizamos um protocolo para ser utilizado posteriormente com suporte no laboratório de Epidemiologia Molecular para o diagnostico externo e a realização de projetos de pesquisa. Desta maneira, continuaremos nas avaliações com os grupos de ectoparasitas coletados, a fim de obter resultados mais precisos.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço à minha orientadora por toda o apredizado e pela oportunidade. Ao departamento de Saúde Coletiva e Saúde Pública Veterinária e a todos da equipe de alunos e professores pelo convívio diário. Agradeço a PROPPI pelo auxílio financeiro.



Ciências Agrárias

Mercúrio total em peixes e cabelo de população de uma área de conservação em Balbina – AM e avaliação de risco à saúde humana

Isabelle Soares Souza de Assis, Micheli da Silva Ferreira

Departamento de Tecnologia de Alimentos/ Faculdade de Medicina Veterinária/Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Pescado

INTRODUÇÃO:

O mercúrio, entre os metais pesados lançados no meio ambiente, é considerado o de maior potencial tóxico e o único que, comprovadamente, sofre biomagnificação ao longo da cadeia trófica, além de sofrer organificação e atingir sua forma mais tóxica (metilmercúrio) no sistema aquático (SIQUEIRA et al., 2005). O consumo de peixe contaminado é a principal via de exposição humana ao metilmercúrio (TRASANDE et al., 2010).

A mineração em pequena escala ou artesanal, que utiliza a amálgama ouro-mercúrio para extrair ouro do minério, é uma fonte significativa de exposição para os trabalhadores e as populações vizinhas. Os mineiros e as populações locais podem ter alta exposição aos vapores de mercúrio. O consumo desses peixes contaminados por moradores da comunidade pode resultar em ingestão de níveis elevados de metilmercúrio (WHO, 2008).

A população da Amazônia, notadamente os ribeirinhos, possui um padrão de alimentação que em muito difere das populações a que os limites de mercúrio da Organização Mundial da Saúde (OMS) se referem, além de outras características como peso, altura etc., que são de elevada importância para a definição de valores de referência (SANTOS et al., 2003).

No Brasil, existem grandes reservatórios de hidrelétricas na Amazônia, que constituem grandes centros produtores de pescado, em escala comercial. Na região de Balbina (1°54' 56.7" S, 59° 28' 25" W), local do presente estudo, vem sendo realizada uma intensa atividade pesqueira, centrada sobre os estoques de tucunarés (*Cichla ocellaris*) e outras

espécies, na região de Balbina, em lagos e rios de águas mais claras dos rios das bacias do Amazonas. Além desses peixes serem consumidos pela população local, são utilizados como bioindicador ambiental em áreas de várzea da bacia amazônica (FREITAS; SOUZA, 2009).

A relação entre a intensidade da poluição ambiental observada pela contaminação dos peixes e os riscos causados pode ser avaliada pela metodologia de avaliação de risco à saúde humana preconizada pela por agências internacionais de saúde, como a United States Environmental Protection Agency (US EPA). Não só isso, o presente estudo visa auxiliar a população em geral a entender os resultados, que são sujeitos a avaliações sistemáticas em consultas públicas e podem ser discutidos a fundo pela população envolvida.

Diversas organizações internacionais de saúde fazem referência a valores limite para a ingestão diária de Hg, uma vez que a acumulação deste metal no organismo humano varia com diversos fatores, como a frequência de consumo de peixe e as concentrações Hg em peixes, com metodologias aplicáveis a diversos cenários. Sendo assim, o estudo visa estimar a contaminação de mercúrio (Hg) em peixes de duas áreas da Vila de Balbina, localizada no município Presidente Figueiredo, no estado do Amazonas. Uma dessas áreas é denominada Pitinga e fica próximo de uma mineradora, a outra, distante da mineradora, foi denominada como o Reservatório de Balbina. As áreas estudadas são banhadas pela bacia do Rio Uatumã, localizada na bacia hidrográfica da Amazônia. O estudo também visa analisar a concentração de mercúrio (Hg) presente no

cabelo da população local para avaliar o risco à saúde humana pelo consumo desses peixes.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

As médias das concentrações de mercúrio total (mg.kg) dos peixes de Pitinga e Reservatório foram, respectivamente, as seguintes: pescada 3,44 e 1,91; piranha 1,29 e 1,22 e pescada 0,89 e 2,8. Notou-se médias maiores na região de Pitinga, exceto pelo peixe pescada, podendo sugerir relação com a proximidade da mineradora. Embora as médias do peixe pescada tenham sido o inverso, assim como o total da concentração da região do Reservatório ter sido maior, pode-se explicar pelo fato das regiões desaguarem no mesmo rio, o Uatumã. Além disso, a oferta alimentar na região represada, o Reservatório, pode ser maior para a espécie de peixe pescada, o que explicaria sua média ter sido maior nesse local.

Um total de 25,6% da população era do gênero feminino, e 83% das mulheres amamentou ou estavam amamentando. A exposição crônica aos compostos orgânicos do mercúrio acarreta grave comprometimento do sistema nervoso, com efeitos diversos em adultos e crianças que foram expostas nas fases precoces do desenvolvimento do sistema nervoso, tanto pré como pós-natal (WHO, 1990). Por conta disso, é importante saber se há exposição pré-natal ao mercúrio.

No caso dos pescadores, 57,1% relatou sobreviver da comercialização da pesca e 10,8% dos entrevistados estiveram ou estavam envolvidos em atividades de garimpo, cujo principal minério era o ouro (57,1%). Um total de 98,7% da população local relatou consumir peixes, sendo o tucunaré a espécie mais consumida. A grande maioria (92,1%) dos peixes consumidos eram advindos de Balbina.

Em relação ao hábito de fumar, 25% era ex-fumante e 22% possui o hábito de fumar. Segundo SILVA et al. (2013), outro

fator que pode levar ao aumento da concentração de metais tóxicos no organismo é o hábito de fumar.

Como término do questionário, 48,1% possui amálgama dentário. As restaurações de amálgama dentário também são fontes potenciais de contaminação pelo mercúrio, que pode ocorrer através dos vapores do metal liberados por elas, ou por meio da absorção pela mucosa bucal (STOCK, 1935; VIMY; LORSCHEIDER, 1985; VYMY; TAKAHASH; LORSCHEIDER, 1990).

Referente à análise de risco, cujos valores de quociente de perigo (HQ) maiores que um expressam risco à saúde, notou-se que todos os peixes citados expressaram um risco quando consumidos a partir de duas refeições semanais, variando um HQ de 1,5729 a 9,5277.

Em relação à análise de mercúrio total nos cabelos dos entrevistados, a média obtida foi de 15.6806 mg.kg¹, pelo menos 15 vezes acima do esperado, cujo valores de referência a pessoas não expostas ao mercúrio é de 1 a 2 µg.g⁻¹ de cabelo (CAMPOS & PIVETTA, 1993).

CONCLUSÕES:

AOMS afirma que os limites máximos de mercúrio são 0,5 mg kg⁻¹ e 1,0 mg kg⁻¹ para peixes não carnívoros e peixes predadores, respectivamente (OMS, 1996) e a regulamentação do Brasil segue tais recomendações (ANVISA, 1998, 2013). Baseado nesses limites, os resultados obtidos dos peixes analisados nas regiões estudadas do Amazonas indicam uma alta concentração de mercúrio em sua maioria. Todas as espécies de peixes analisadas neste estudo eram piscívoras (tucunaré, piranha e pescada) e apresentaram alto teor de mercúrio, até quase 4x maior do

permitido. Corroborando com os achados, através das análises de risco foi comprovado o elevado risco dos consumos das três espécies pesquisadas (tucunaré, piranha e pescada) quando seu consumo semanal for de pelo menos duas refeições.

Correlacionando dados do questionário e da concentração mercurial dos peixes, mostrou-se que o peixe mais consumido na região é o tucunaré, sendo esse o que mais apresentou limites de mercúrio acima dos limites preconizados pela legislação (BRASIL, 2017). Além disso, a partir da análise de cabelo da população entrevistada, verificou-se um valor de 15x maior do esperado pela OMS, cujo teor de mercúrio total considerado como normal em pessoas não expostas é de 1 a 2 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de cabelo (CAMPOS & PIVETTA, 1993).

Uma vez que peixes são bioacumuladores de elementos-traços, e, portanto, podem ser utilizados como biomarcadores para estudos de contaminação, evidencia-se que os ambientes aquáticos estudados de Balbina – AM estão contaminados com mercúrio, podendo sua origem vir de atividades de mineração e intempéries.

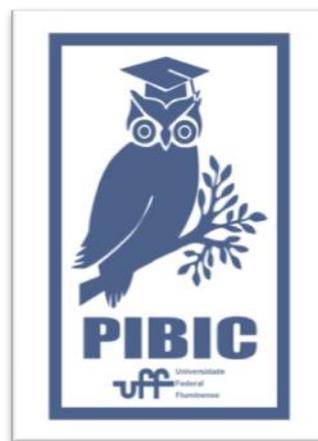
Os dados encontrados são alarmantes, uma vez que grande parte da população das mulheres amamenta ou amamentou e que a maioria consome um dos peixes com maior teor de mercúrio (tucunaré). O metilmercúrio, que corresponde até 90% do mercúrio total dos alimentos, ocasiona um quadro muito mais grave em crianças do que em adultos, sendo as lesões do sistema nervoso central generalizadas, em contraste com o aspecto

mais focalizado observado na intoxicação do adulto (WHO, 1990).

Sugere-se um alerta à saúde pública e autoridades, com apoio à realização de atividades educacionais à população ribeirinha, ainda mais que em sua maioria são pessoas de baixa-renda e de baixo nível escolar, onde o pescado é uma das fontes de renda e consumo local.

Agradecimentos:

Agradecimentos à Universidade Federal Fluminense e ao Pibic CNPq pela oportunidade de bolsa, além da orientação especial da professora Micheli da Silva Ferreira.





Grande área do conhecimento: CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Título do Projeto: ANÁLISE MORFOMÉTRICA DE VASOS SANGUÍNEOS NO ENXERTO DE TÚNICA ALBUGÍNEA OVINA NO REPARO DE HÉRNIAS INCISIONAIS DE RATOS

Autores: LETÍCIA MOREIRA DA CUNHA, CECÍLIA RIBEIRO

CASTANON, ANA CLARA DE CASTRO CANELLAS, CARLA FERREIRA FARIAS

LANCETTA, MARIA DE LOURDES GONÇALVES FERREIRA, VIVIANE ALEXANDRE

NUNES DEGANI

Departamento/Unidade/Laboratório: UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINESE –

DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA – INSTITUTO BIOMÉDICO – LABORATÓRIO DE

ANÁLISES MORFOLÓGICAS (LAM)

INTRODUÇÃO: As hérnias incisionais são afecções de difícil tratamento que acometem pequenos e grandes animais e podem ser cercadas de complicações. As hérnias incisionais foram constatadas com um índice de 16% em laparotomias medianas em humanos e de 18% em animais de grande porte. Devido a esses recorrentes casos na rotina da clínica cirúrgica, diversos biomateriais de diferentes origens vêm sendo produzidos e empregados para reparar e reforçar tecidos traumatizados. Um dos materiais sintéticos utilizados é a tela de polipropileno, porém, apresenta algumas desvantagens, como pouca elasticidade (característica que o faz desacompanhar o crescimento natural do organismo), pode causar uma reação inflamatória se utilizada em tecidos contaminados, além de haver necessidade de ser retirado quando o tecido estiver cicatrizado. A partir da realização de alguns estudos, têm-se visto a possibilidade de uso da túnica albugínea como biomaterial de enxerto a fim de adquirir reforço, com resultados favoráveis. O objetivo do presente estudo visa a avaliação da biocompatibilidade da túnica albugínea de ovinos como material de enxertia na reparação cirúrgica da parede abdominal de ratos, sendo avaliados parâmetros como processo cicatricial, aspectos histopatológicos e quantificação dos vasos sanguíneos, buscando reforçar a teoria de aplicabilidade do biomaterial e propor a utilização da túnica albugínea como método alternativo de enxertia para reforço da parede abdominal. O projeto em questão foi realizado

na Universidade Federal Fluminense, Departamento de Morfologia, após aprovação do CEUA sob protocolo 532. A túnica albugínea foi dos ovinos da Fazenda Escola da Universidade Federal Fluminense. Os ratos em questão foram divididos em 2 grupos com 15 animais cada, sendo um grupo simulação (S) e outro o grupo teste em si (T). Após isso, os animais foram anestesiados com cetamina e midazolam e realizado o procedimento cirúrgico, onde o grupo T foi submetido ao reforço com túnica albugínea e os animais do grupo S não receberam o reforço após abertura da cavidade abdominal. Em seguida, os animais ficaram em caixas isoladas e foi realizada a necropsia em grupos de animais divididos por tempo de cicatrização: 7, 15 e 28 dias de pós cirúrgico, em ambos os grupos. As amostras foram retiradas de uma porção da parede abdominal e passaram por processamento histológico a fim de avaliar as reações do organismo. As amostras em questão serão encaminhadas para a análise morfométrica que será realizada com microscopia óptica e posterior captura de fotografias e quantificação dos vasos sanguíneos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES: O presente projeto já apresenta resultados preliminares, sobre os animais dos grupos simulação (S) e teste (t), ambos aos dias 7, 14 e 28 de pós-operatório. Após eutanásia e coleta de material, foi realizado o processamento das amostras e estas foram coradas por

Hematoxilina-Eosina (HE) e Tricrômio de Gomori, e houve avaliação histopatológica, onde foi possível observar diversas alterações. Nos animais do grupo T em 7 dias, havia um intenso infiltrado inflamatório estando presente polimorfonucleares, neovascularização inicial e escassa deposição de colágeno e fibrose. Os animais do grupo controle no mesmo período, apresentaram diferenças em relação ao menor foco de polimorfonucleares sem caracterização de inflamação aguda. No período de 14 dias, nos animais do grupo T, observou-se infiltrado inflamatório intenso, com proliferação fibrocelular densa, neovascularização moderada, deposição de colágeno e fibrose moderada. No grupo controle no mesmo período, foi constatada menor infiltrado inflamatório em comparação ao grupo T e absorção dos fios de sutura, com cicatrização quase completa. Aos 28 dias de pós-operatório, os animais do grupo T apresentaram musculatura envolta por tecido conjuntivo denso reforçando a sutura se comparado ao grupo simulação, ficando presente apenas um remanescente da túnica albugínea, que serve como base para a cicatrização. Neste mesmo grupo, houve constatação nítida da absorção do enxerto e substituição do mesmo por tecido cicatricial. No grupo S, após 28 dias de pós-operatório, observou-se cicatrização completada e processo de fibrose.

CONCLUSÕES: Conforme resultados parciais obtidos no experimento apresentado pode-se concluir que a túnica albugínea é um material alternativo para técnicas de enxertia devido à sua fácil obtenção, preservação e baixo custo no reparo de parede abdominal, servindo como excelente material de reforço, devido à sua boa adaptação ao organismo do hospedeiro e à precocidade de cicatrização.

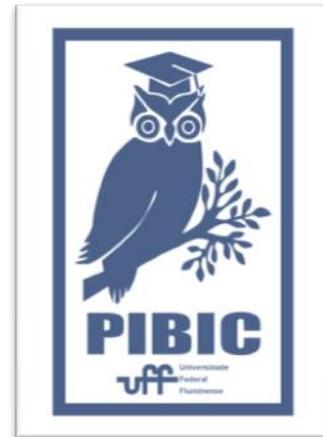
Agradecimentos:

Em primeiro lugar, não posso deixar de agradecer à minha orientadora, Professora Viviane Alexandre Nunes Degani, por toda a paciência e empenho com qual me orientou neste projeto.

Desejo igualmente agradecer ao Departamento de Morfologia, que pôde proporcionar toda a infraestrutura necessária onde eu pude ter a oportunidade de participar desse projeto.

Agradeço também a todos os funcionários da Universidade Federal Fluminense, que direta ou

indiretamente foram únicos em seu trabalho e quem sem eles este projeto não poderia ter acontecido.





Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias

Utilização de técnica de Reação em cadeia de polimerase para identificação de fraudes por substituição de espécies em embutidos frescos comercializados na cidade de Niterói-RJ

Stephanie Furtado Ramalho.¹, Leandro dos Santos Machado², Elmiro Rosendo do Nascimento², Nathalie Costa da Cunha². Alfredo Tavares Fernandez³

1 Bolsista PIBIC UFF . Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói RJ

2 Laboratório de Epidemiologia Molecular, Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública - MSV, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ

3 Departamento de Tecnologia de Alimentos - MTA , Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ

INTRODUÇÃO

O Brasil encontra-se entre os maiores produtores e exportadores de carne do mundo e também destaca-se no mercado interno. Sobressai na produção de derivados e desses a linguiça frescal é a mais comum e também a mais apreciada. De acordo com Premanandh (2013), a rotulagem é o meio de comunicação entre produtores e consumidores e conforme Sentandreu; Sentandreu (2014), as pessoas exigem informações claras e confiáveis nos rótulos uma vez que a escolha do consumidor é muito influenciada pela composição dos alimentos detalhada na rotulagem. As fraudes por substituição de espécies fazem parte das Adulterações Economicamente Motivada – AEM nos alimentos e ocorre intencionalmente visando vantagem financeira. As AEM apresentam um desafio particular para a indústria e órgãos reguladores, porque são constituídos de atos deliberados que visam evitar sua detecção (EVERSTINE et al., 2013). A possibilidade de haver uma composição diferente daquela descrita em seu rótulo constitui não somente uma fraude mas também pode incorrer em riscos à Saúde Pública, quando da presença de alérgenos e envolve também questões culturais, étnicas e religiosas. No alimento, o DNA é termoestável e onipresente sendo um alvo adequado para identificação da carne e respectiva espécie animal. Portanto, o desenvolvimento de métodos moleculares para identificação de carnes ganhou atenção. A maioria destes testes são baseados em Reação em Cadeia de Polimerase - PCR (GIRISH et al., 2004). A técnica de PCR pode ser usada na detecção de fraudes por ser uma técnica rápida, econômica

é de fácil execução. Os objetivos da pesquisa foram avaliar a técnica de PCR na detecção de fraudes avaliando a ocorrência na comercialização de produtos cárneos embutidos frescos (linguiças) na cidade de Niterói – RJ. Na metodologia, foram adquiridos iniciadores (primers) das espécies envolvidas (bovina, suína, ovina, frango) e também foram obtidas amostras de carnes das espécies em questão em supermercados. Em seguida, foi realizada a adaptação da técnica de extração Fenol-Clorofórmio e a padronização da técnica de PCR. Em seguida foram adquiridas as amostras de embutidos frescos (Tabela 1) que foram submetidas a extração de DNA, amplificação e a eletroforese para os primers das amostras de carnes das espécies usadas.

Tabela 1: Designação de venda, regime de inspeção sanitária e matéria prima das amostras de embutidos frescos analisadas.

Amostras	Designação de venda	Matéria prima	Regime de Inspeção Sanitária
A	Linguiça de pernil	Pernil suíno	Federal
B	Linguiça de carne suína	Carne suína	Federal
C	Linguiça de pernil	Pernil suíno	Federal
D	Linguiça de frango	Frango	Federal
E	Linguiça de pernil	Pernil suíno	Federal
F	Linguiça de porco	Carne suína	Ausente

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A técnica de PCR foi considerada eficiente já que o DNA foi extraído com sucesso de todas as amostras de linguiça e resultaram

em produtos de PCR e eletroforese com faixas do tamanho esperado (bovino com 274 pb, ovino com 340 pb, frango com 227 pb e suíno com 398pb). Da mesma forma, todos os controles positivos e negativos também apresentaram o resultado esperado.

De acordo com a tabela 2, verifica-se que todas as amostras de embutidos frescais de carne suína foram fraudadas com carne de frango. Apenas a amostra de embutido frescal que foi elaborada com carne de frango estava idônea. A incidência dessa fraude nos embutidos frescais de carne suína se justifica como AEM como relataram Everstine et al. (2013); inclusive no aspecto relacionado a detecção da fraude. Não houve detecção das carnes bovina ou ovina nas análises efetuadas.

Tabela 2: Resultados da técnica de PCR em amostras de embutidos frescais comercializados em Niterói-RJ

Amostras	Rótulo	DNA			
		Suíno	Ovino	Frango	Bovino
A	Suíno	+	-	+	-
B	Suíno	+	-	+	-
C	Suíno	+	-	+	-
D	Frango	-	-	+	-
E	Suíno	+	-	+	-
F	Suíno	+	-	+	-

Os resultados de AEM em alguns países parecem variar de acordo como o desenvolvimento do país. Em países europeus como Turquia, Holanda, Portugal, Alemanha e Espanha; a ocorrência de AEM oscila entre 3 e 18% (LOPES; 2013, DEMIRHAN et al.; 2012, JONKER et al. , 2008; SAKALAR e ABASIYANIK; 2011, CALVO et al. ;2001, PASCOAL et al.; 2004). Já em países como Japão e Malásia, os resultados de AEM foram nulos (TANABE et al.; 2007, CHANDRIKA et al.; 2010). Porém na África do Sul, Taiwan e Egito; oscilaram entre 25,6% a 31,8% (HSIEH et al.; 2005, CAWTHORN et al., 2013; EL-NASSER et al., 2010). Na China, essas AEM alcançaram 81,8% (CHEN et al., 2010), valores próximos aos aqui obtidos. No Brasil, não foram encontradas publicações científicas a respeito desse tema. O índice elevado de fraudes em

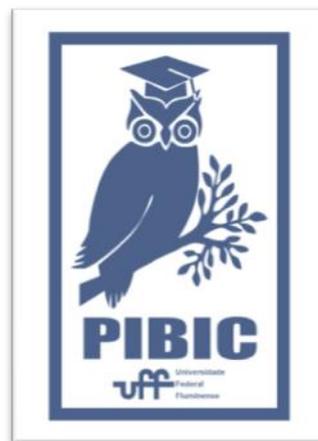
embutidos frescais de carne suína parece se justificar pelo baixo preço da carne de frango o que barateia o custo final. Previa-se que por tratar-se de estabelecimentos sob regime de Inspeção Federal, que esse tipo de fraude teria ocorrência mínima o que não se efetivou. Já produtos elaborados sem regime de inspeção teriam maior chance de apresentar esse tipo de fraude o que se efetivou em uma das amostras. O Regulamento Técnico específico vigente é omissivo no que tange a composição desses embutidos (BRASIL, 2000). Porém, de acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA, em seu artigo 442, parágrafo único: “As informações expressas na rotulagem devem retratar fidedignamente a verdadeira natureza, a composição e as características do produto”.

CONCLUSÕES:

A utilização da técnica de PCR se mostrou eficiente para a detecção das fraudes por substituição de espécies. A alta ocorrência dessas fraudes, com uso da carne de frango, denota que as práticas enganosas são comuns. Sugere-se a continuidade da pesquisa para que se consolide os resultados aqui constatados.

Agradecimentos:

Ao financiamento cedido pelo PIBIC – UFF); ao Corpo de funcionários e pesquisadores do Laboratório de Epidemiologia Molecular e do Departamento de Tecnologia de Alimentos.





Ciências Agrárias

Avaliação Histopatológica e da Expressão do Marcador Biológico PCNA em Neoplasias Epiteliais Cutâneas de Cães e Gatos

Larissa de Lima e Lima, Maysa Andreola de Queiroz Vaz, Juliana da Silva Leite, Ana Maria Reis Ferreira, Kássia Valéria Gomes Coelho da Silva

Setor de Anatomia Patológica Veterinária Departamento de Patologia e Clínica Veterinária. Universidade Federal Fluminense

INTRODUÇÃO:

À medida que se estreitam os laços entre cães, gatos e seres humanos, e conseqüentemente aumentam os cuidados dedicados a eles, observa-se que as espécies canina e felina estão apresentando uma maior expectativa de vida. Concomitantemente, observa-se que doenças associadas à longevidade, como o câncer, tem se tornado cada vez mais frequentes (Ferreira, 2017). Atualmente, de 20% a 75% dos atendimentos veterinários realizados em clínicas e hospitais estão relacionados com problemas dermatológicos (Scott et al., 2001). O prognóstico correto e conseqüente sucesso do tratamento baseiam-se na compreensão do comportamento biológico da neoplasia. O entendimento dessas alterações morfofuncionais é possível através da análise histopatológica do tumor, associada aos dados clínicos e ao auxílio de técnicas avançadas de diagnóstico como a imuno-histoquímica. O objetivo deste estudo foi analisar a relação entre o caráter de malignidade de tumores de pele de cães e gatos e a resposta ao marcador de proliferação celular (PCNA – Antígeno Nuclear de Proliferação Celular), por meio da imuno-histoquímica.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram selecionados oito nódulos neoplásicos de pele de cães e gatos do Laboratório de Anatomia Patológica Veterinária, provenientes da rotina do Hospital Universitário de Medicina Veterinária Firmino Mársico Filho (HUVET-UFF), diagnosticados por meio de análise histopatológica com coloração de Hematoxilina-Eosina.

Do total de neoplasias, foram diagnosticados cinco carcinomas de células

escamosas (CCE), dois tricoblastomas e um tricoepitelioma. Na análise imuno-histoquímica com o anticorpo anti-PCNA, o resultado positivo, dado pelas células fortemente marcadas, foi mais numeroso nos nódulos malignos, contabilizando um total de 31% em relação ao total de 16% nas amostras benignas (Gráficos 1 e 2). Pode-se concluir que as neoplasias malignas obtiveram maior percentual de marcação positiva para o anticorpo anti-PCNA, demonstrando que a proliferação celular foi maior nas neoplasias malignas que nas benignas.

Gráfico 1: Percentual de células fortemente marcadas, fracamente marcadas e negativas no total de neoplasias epiteliais cutâneas malignas (CCE) em cães e gatos analisadas no laboratório de anatomia patológica veterinária da Universidade Federal Fluminense em 2019.

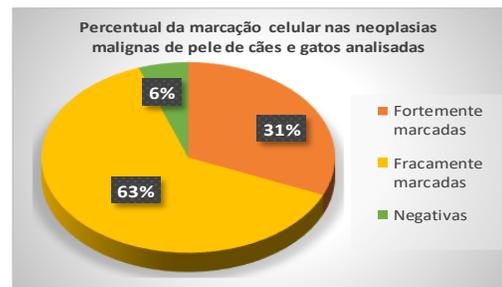
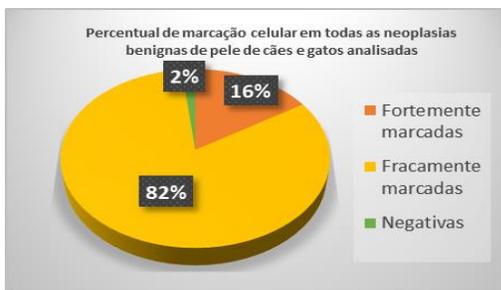


Gráfico 2: Percentual de células fortemente marcadas, fracamente marcadas e negativas no total de neoplasias epiteliais cutâneas benignas (tricoblastoma e tricoepitelioma) em cães e gatos analisadas no laboratório de anatomia patológica veterinária da Universidade Federal Fluminense em 2019.



Amemiya et al. (2010) em seu estudo sobre progressão de câncer gástrico em humanos concluíram que a expressão do PCNA foi maior nos pacientes com estágios avançados do que naqueles em estágios iniciais. Com isso, há sugestão de que nos pacientes com cânceres com maior proliferação de células neoplásicas, ou seja, com maior potencial de malignidade, a marcação do PCNA se mostrou elevada.

O presente estudo corrobora, ainda, com a pesquisa de Silva et al. em 2016, sobre tumores orais em gatos, na qual foi possível concluir que a expressão de PCNA auxiliou na determinação do grau de diferenciação celular, adotado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela classificação de Broder (classificação que não leva em conta a história clínica do animal, somente o grau de diferenciação celular). Até o momento, foram encontrados poucos estudos utilizando o anticorpo anti-PCNA em neoplasias cutâneas de cães e gatos. Portanto o presente estudo tem grande relevância para a clínica de pequenos animais e pode ser considerada uma possibilidade na determinação de caráter tumoral, no auxílio do diagnóstico precoce, do prognóstico e escolha da terapia mais eficiente diante de cada caso.

CONCLUSÕES:

As neoplasias malignas obtiveram maior percentual de marcação positiva para o anticorpo anti-PCNA, demonstrando que a proliferação celular foi maior nas neoplasias malignas que nas benignas.

Mais estudos são necessários, com análise de um maior número de nódulos, a fim de verificar se realmente a maior frequência de resultados positivos em relação à proliferação celular marcada pelo PCNA é, de fato, mais elevada em neoplasias cutâneas malignas, e se esta expressão está relacionada à piores prognósticos clínicos.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço pela oportunidade concedida pelo CNPq, que tornou possível minha aproximação e aprofundamento na área de pesquisa. Agradeço às professoras e pós-graduandos do setor que estão sempre dispostos a nos ajudar e nos passar conhecimentos valiosos. Agradeço por toda experiência prática que adquiri dentro do laboratório e por ter a oportunidade de acompanhar a rotina de médicos veterinários no dia-a-dia, o que não seria possível dentro de sala de aula. Pude acompanhar profissionais que já passaram pelos momentos que estou passando e que servem como inspiração para que eu busque sempre melhorar dentro da medicina veterinária. Tenho certeza que esse período como bolsista de iniciação científica será levado para minha vida com boas memórias e fará toda diferença na minha formação e no meu futuro profissional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AMEMIYA, Hideki; MENOLASCINO, Francisco; PENA, Alix. Papel de la expresión del receptor c-Met en la progresión del cáncer gástrico. *Invest. clín.*, Maracaibo, v. 51, n. 3, p. 369-380, sept. 2010. Disponível em <http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S05355133200010000307&lng=es&nrm=iso>. Acessado em 06 sept. 2019.

FERREIRA, Marília Gabriele Prado Albuquerque; NARDI, Andriago Barboza De; BARNABÉ, Daniel Galera; SOBRAL, Renata Afonso. Abordagem ao cão e gato com câncer: qual a visão do seu tutor? Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campus de Jaboticabal. 2017.

SCOTT, D.W.; MULLER, K. Dermatologia dos pequenos animais. 6.ed. Philadelphia: Saunders, 2001. 1528p.

SILVA, M.C.C. (2016). Estudo morfológico e imunohistoquímico da expressão de p63 no carcinoma espinocelular de gatos. Dissertação Mestrado. Universidade Lisboa, Faculdade de Veterinária, oral em Medicina Lisboa.





Ciências agrárias

Efeito do Ultrassom nas propriedades cinéticas e termodinâmicas de soluções aquosas contendo goma tara

Ianne Caroline Alves Isabel, Monique Barreto Santos, Edwin Elard Garcia-Rojas

Laboratório de Engenharia e Tecnologia Agroindustrial (LETA)
- EEIMVR

INTRODUÇÃO:

A goma tara (GT) é uma galactomanana que tem ocasionado interesse em muitos estudos devido as suas propriedades tecnológicas. Caracteristicamente, a goma tara apresenta uma alta viscosidade relacionada à sua alta massa molar (10^6) e carga elétrica neutra. A utilização de ultrassom é considerada uma tecnologia "verde" devido à sua alta eficiência, baixos requisitos instrumentais, redução significativa do tempo de processamento e por, geralmente, possuir um desempenho economicamente viável com aplicação em diferentes indústrias tais como a de alimentos. Assim, o presente trabalho tem como objetivo estudar o efeito do ultrassom nas propriedades cinéticas e termodinâmicas de soluções aquosas contendo goma tara.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A Tabela 1 apresenta os valores de viscosidade intrínseca $[\eta]$ obtida a partir da equação 1 e massa molar (Mv) obtida a partir da equação de Mark-Houwink em diferentes tempos e temperaturas de sonicação. A Figura 1 mostra a redução da massa molar causada pelo aumento do tempo de sonicação.

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} (\eta_{red}) = \lim_{c \rightarrow 0} (\eta_{inher}) \quad (1)$$

Tabela 1. Viscosidade intrínseca da GT em função do tempo e temperatura de sonicação.

t (min)	T (°C)	$[\eta]$ (mL/g)	Mv x10 ⁵ (g/mol)
0	25	14,31	22,30
10	25	13,57	21,11
10	35	11,93	18,51
10	45	11,61	18,02
10	55	11,20	17,36
20	25	12,18	18,91
20	35	11,25	17,45
20	45	11,37	17,32
20	55	10,51	16,27
30	25	11,29	17,51
30	35	10,53	16,63
30	45	10,39	16,08
30	55	10,20	15,79
40	25	10,12	15,66
40	35	10,11	15,65
40	45	10,08	15,59
40	55	10,15	15,71
50	25	9,5	14,68
50	35	9,85	15,23
50	45	10,22	15,82
50	55	9,63	14,88
60	25	8,89	13,70
60	35	9,21	14,23
60	45	9,56	14,78
60	55	9,33	14,42

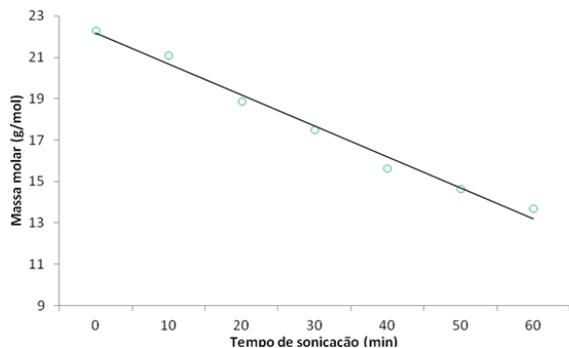


Figura 1. Massa molar (10^5) da GT à 25° em função do tempo de sonicação.

A partir da viscosidade intrínseca e através do modelo proposto por Baramboim na equação 2 foram obtidos os parâmetros cinéticos apresentados na Tabela 2.

$$\eta_t = (\eta_0 - \eta_{\infty})e^{-kt} + \eta_{\infty} \quad (2)$$

Onde η_0 é a viscosidade inicial, η_t é a viscosidade no tempo t , η_{∞} é a viscosidade intrínseca limitante e k é a taxa de despolimerização da solução aquosa de GT.

Tabela 2. Parâmetros cinéticos da solução aquosa de GT.

T (°C)	$[\eta]$ (ml/g)	k (mol/gmin)	R ²
25	13,70	0,0370	0,91
35	14,23	0,0435	0,98
45	14,78	0,0499	0,85
55	14,42	0,0554	0,89

Os parâmetros termodinâmicos apresentados na Tabela 3 foram obtidos a partir da equação de Arrhenius (3) e Eyring (4).

$$k = A e^{-E_a/RT} \quad (3)$$

$$k = \frac{T k_B}{h} \exp\left(\frac{-\Delta G}{RT}\right) = \frac{T k_B}{h} \exp\left(\frac{-\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R}\right) \quad (4)$$

onde R é a contante universal dos gases (8.314 J/mol K), T é a temperatura absoluta em Kelvin, k_B é a constante de Boltzman (1.38×10^{-23} J/K) e h é a contante de Planck (6.6256×10^{-34} J/s). A energia livre de Gibbs (ΔG) pode ser obtida a partir da equação 5.

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \quad (5)$$

Tabela 3. Parâmetros termodinâmicos da solução aquosa de GT.

	ΔG (KJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol)	Ea (kJ/mol)
25°C	10,15			
35°C	10,85	8,39	-70,32	10,81
45°C	11,55			
55°C	12,26			

CONCLUSÕES:

As propriedades cinéticas e termodinâmicas da GT foram determinadas em diferentes tempos e temperaturas de sonicação. Pode-se concluir que a massa molar viscosimétrica média e a viscosidade intrínseca da goma tara teve os seus valores decrescidos com o aumento do tempo de sonicação nas temperaturas estudadas. Ou seja, o ultrassom influenciou diretamente na massa molar do polissacarídeo em questão. Além disso, a temperatura teve influência na redução da massa molar da GT somente até o tempo de 30 min após esse tempo de sonicação a temperatura não teve influência no resultado.

Agradecimentos:

Os autores agradecem à FAPERJ e CNPq pelo apoio financeiro.



Ciências Agrárias

Caracterização da formação de biofilme de *Staphylococcus pseudintermedius* em dispositivos médicos

Isabella Thomaz da Silva, Milena de S. Antunes, Carolina O.da Fonseca, Camilla M. Pesset, Eliane de O. Ferreira, Bruno de A. Penna

MIP/CMB/Lab. de Cocos Gram Positivos

INTRODUÇÃO:

Staphylococcus pseudintermedius é o principal agente etiológico de pioderma e infecções de sítio cirúrgico (ISC) em cães. A capacidade de formação de biofilme é o principal motivo de ISC persistente e tem sido relatada em associação com implantes cirúrgicos em cães causada por *Staphylococcus pseudintermedius*, incluindo cepas susceptíveis e resistentes à meticilina (MSSP e MRSP, respectivamente). Quando a infecção ocorre após uma cirurgia ortopédica, a cicatrização é atrasada e frequentemente requer procedimentos cirúrgicos adicionais para a remoção do implante. Isso se torna uma fonte de morbidade significativa, alto custo e ocasional mortalidade do paciente. O operon ica é responsável pela produção de lodo de biofilme. No operon, a coexpressão de icaA e icaD é necessária para a síntese completa do lodo. A presença de biofilme em dispositivos médicos pode impactar diretamente o tratamento de uma ISC. As infecções por MRSP também podem ser consideradas um problema de saúde pública, pois pode ocorrer transmissão zoonótica. O objetivo do estudo foi avaliar a capacidade de formação de biofilme por *Staphylococcus pseudintermedius* em material ortopédico de titânio e materiais de sutura comumente utilizados em cirurgias de pequenos animais, bem como avaliar geneticamente a formação de biofilme dessas bactérias.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Nos segmentos de fio de sutura de nylon, todos os isolados foram classificados como não produtores de biofilme, mas no fio de sutura com ácido poliglicílico, todos os isolados foram capazes de formar biofilme. Nos fios de algodão, 75% (6/8) eram produtores de biofilme e 12,5% (1/8) eram produtores de biofilme em fios de sutura de polipropileno. Sete isolados (87,5%) foram capazes de formar biofilme em porca de titânio e apenas um isolado (12,5%) foi classificado como não produtor de biofilme. A

PCR revelou a presença dos dois genes (icaA e icaD) em todos os isolados.

CONCLUSÕES:

S. pseudintermedius foi capaz de formar biofilme no material ortopédico e em alguns fios de sutura testados. Isso pode representar uma séria ameaça não apenas aos animais submetidos a cirurgias ortopédicas e gerais, mas também aos donos de cães, devido à íntima interação social entre eles e ao risco zoonótico dessas espécies bacterianas. São necessários estudos posteriores para testar possíveis maneiras de superar essa ameaça. Os materiais ortopédicos e de sutura que permitem a formação de biofilme dificultam a prevenção e o tratamento de uma infecção no local cirúrgico. Portanto, é conveniente priorizar materiais que não facilitem a formação de biofilme, como suturas de nylon, além do desenvolvimento de novas medidas preventivas e terapêuticas.

Agradecimentos:

CNPq, CAPES e Faperj



Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias

Título do Projeto: Detecção de *Mycoplasma gallisepticum* e *M. synoviae* (MS) nas fases de Recria e Produção de Galinhas Poedeiras e Determinação da Concentração Inibitória Mínima de Enrofloxacina e Tilosina para MS

Autores: Mariane Meloni da Silva¹, Rosiane Lima Silva¹, Arthur de Almeida Figueira¹, Leandro dos Santos Machado¹, Nilce Maria Soares², Jane Garcia Pinheiro³, Thomas Salles Dias¹,

Elmiro Rosendo Nascimento¹, Virginia Leo de Almeida Pereira¹.

Departamento/Unidade/Laboratório: MSV/Faculdade de Veterinária¹; APTA/Instituto Biológico de Bastos, SP²; PESAGRO-Rio³

INTRODUÇÃO

A micoplasmose aviária destaca-se como uma das doenças de maior impacto econômico na avicultura, causando prejuízos diretos e constando da lista de doenças de notificação obrigatória da OIE e com prioridade na abordagem no Programa Nacional de Sanidade Avícola do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil. *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e *M. synoviae* (MS) são as principais espécies de micoplasmas que acometem as aves e estão presentes nos plantéis brasileiros, com alta prevalência de MS nas criações de poedeiras comerciais (BUIM et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2015). O diagnóstico da infecção por micoplasmas pode ser realizado por ELISA, pelo isolamento e/ou PCR, aliados ao histórico dos lotes de aves (NASCIMENTO e PEREIRA, 2009). O tratamento contra MG e MS na avicultura é realizado pelo uso de antimicrobianos, como macrolídeos e quinolonas. Estudos recentes evidenciam uma diminuição na suscetibilidade dos micoplasmas a diversos antimicrobianos, o que demonstra a necessidade de se realizar testes periódicos para análise desses tratamentos (GAUTIER-BOUCHARDON, 2018). O objetivo deste estudo foi comparar a frequência de MG e MS em poedeiras nas fases de recria e de produção e determinar a concentração inibitória mínima (CIM) para enrofloxacina (ENRO) e tilosina (TIL) de cepas de MS. Foram coletadas 140 amostras de traquéia e sangue, em seis granjas de postura comercial (A, B, C, D, E, e F) para diagnosticar MG e MS por PCR e ELISA. Nas granjas A a E, as amostras foram obtidas a partir de suabes de traquéia de 10 aves de 2 lotes (um na recria e outro na produção) e na granja F de 4 lotes (3 na recria e um na produção). Para ELISA, foram obtidas amostras de soro a partir do sangue das mesmas aves dos mesmos lotes. Para determinação da CIM de ENRO e TIL, foram testadas duas cepas de MS

obtidas na granja C, tituladas pelo método de "Change Color Units" (CCU) e testados em concentrações de antimicrobianos de 0,312µg/mL a 80µg/mL.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na granja A, 10% (2/20) das aves foram positivas para MG pela PCR, enquanto 100% (20/20) foram positivas ao ELISA; 75% (15/20) foram positivas para MS pela PCR e 100% (20/20) ao ELISA. Na granja B, nenhuma das amostras foi positiva para MG pela PCR, enquanto ao ELISA, 75% (15/20) foram positivas; para MS, 95% (19/20) foram positivas pela PCR e 55% (11/20) ao ELISA. Na granja C, 5% (1/20) das aves foram positivas para MG pela PCR e 100% (20/20) ao ELISA; para MS, as duas técnicas detectaram 100% (20/20) de positividade. Na granja D, 35% (7/20) das amostras foram positivas para MG pela PCR e 90% (18/20) ao ELISA; para MS, 80% (16/20) foram positivas pela PCR e 100% (20/20) ao ELISA. Na granja E, 65% (13/20) das aves foram positivas para MG pela PCR e 100% (20/20) ao ELISA; para MS, 55% (11/20) apresentaram positividade pela PCR e 100% (20/20) ao ELISA. E na granja F, nenhuma foi positiva para MG pela PCR e 55% (22/40) ao ELISA; para MS, 37,5% (15/40) foram positivas pela PCR e 75% (30/40) pelo ELISA. Houve fraca concordância (KAPPA) entre PCR e ELISA para MG e para MS, o que era esperado, considerando que ELISA detecta anticorpos e PCR detecta o DNA bacteriano, não havendo relação entre as amostras. Não houve diferença na frequência de detecção de anticorpos contra MG e MS ao ELISA nas aves em fase de recria, nem na fase de produção (Teste Qui-quadrado-independência, $p > 0,005$). Houve diferença na frequência de MS em relação a MG à PCR nas duas fases ($p < 0,0001$), sendo a frequência de MS mais alta em ambas. Quando comparadas a frequência de positivos para MG ao

ELISA e à PCR na recria com a frequência de positivos para MG na produção, os resultados foram semelhantes. Para MS, os resultados também foram semelhantes ao ELISA quando comparadas recria e produção, mas à PCR foram significativamente diferentes (Teste binomial: duas proporções, $p < 0,0001$), sendo a detecção de MS maior na fase de produção, o que pode indicar um aumento na disseminação desse agente nesta fase por falta de controle sanitário nas granjas, entre outros fatores. Todas as granjas estudadas foram positivas para MS, o que corrobora os relatos de alta prevalência do agente nas granjas de postura comercial (BUIM et al., 2009; TEIXEIRA, 2015). As duas cepas de MS foram sensíveis (CIM de $>0,312\mu\text{g/mL}$ de ENRO para a amostra 2 e de TIL para as duas) ou apresentaram susceptibilidade intermediária (CIM de ENRO de $0,625\mu\text{g/mL}$ para a amostra 1), segundo Kreizinger et al. (2017). A falta de padrões oficiais dificulta a interpretação de CIM dos antibióticos testados para micoplasmas. O aumento na CIM para ENRO já foi relatado, ainda que a maioria das cepas permaneça sensível (GAUTIER-BOUCHARDON, 2018). Tilosina têm demonstrado boa atividade *in vitro* na inibição de micoplasmas (KREIZINGER et al., 2017), o que

justifica os resultados encontrados no presente estudo.

CONCLUSÕES

Foi comprovada a alta prevalência de MS nas criações de poedeiras testadas. O sucesso no uso de antimicrobianos depende da realização de testes para monitorar a susceptibilidade dos micoplasmas, entretanto, no Brasil estes testes são escassos, o que torna este estudo ainda mais relevante.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo apoio financeiro

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BUIM et al. (2009). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29 (7): 552-556,
3. GAUTIER-BOUCHARDON (2018). *Microbiology Spectrum*, 6 (4):1-21
4. KREIZINGER et al. (2017). *BMC Veterinary Research*, 13 -342
5. NASCIMENTO e PEREIRA (2009). Micoplasmoses. In BERCHIERI JR. et al. *Doenças das Aves*. Campinas: FACTA, 1104p.
6. TEIXEIRA et al. (2015) *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 37(4) : 379-385



Grande área de conhecimento: Ciências Agrárias

Título do projeto: Detecção e caracterização molecular dos parvovírus de canídeos e felídeos selvagens do Parque Nacional de Itatiaia

Autores: Julia Almeida Queiroz de Freitas¹, Nayara Luiza Tavares Moraes¹, Laís Verdán Dib², Alynne da Silva Barbosa²,

Rita de Cássia Nasser Cubel Garcia¹

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, UFF. ¹Laboratório de Gastrenterites Virais e Parvovírus, ²Laboratório de Parasitologia.

INTRODUÇÃO:

Os parvovírus patogênicos de animais (gênero *Protoparvovirus*, família **Parvoviridae**) se caracterizam por serem pequenos vírus contendo genoma DNA de fita simples e capsídeo de simetria icosaédrica constituído de duas proteínas: VP1(82 kDa) e VP2 (67 kDa).

Apesar de serem vírus de genoma DNA, os parvovírus apresentam taxas de mutação de genes semelhantes às observadas em vírus com genoma RNA, e tal fato é responsável pelo aparecimento de novas variantes.

O Parvovírus Canino (CPV) é um exemplo de sucesso na transposição da barreira de hospedeiro, já que é considerado uma variante do parvovírus felino (FPV) que adquiriu a capacidade de replicação em cães após a passagem em um hospedeiro carnívoro selvagem. O sequenciamento do DNA de vários isolados de parvovírus sugere que o parvovírus de raposa seja um ancestral do CPV.

A capacidade de replicar em uma gama de hospedeiros é uma propriedade chave dos parvovírus, o que reflete a diversidade de espécies (*Canidae*, *Felidae*, *Procyonidae* *Mustelidae* e *Viverridae*) que estes vírus podem infectar naturalmente.

Ao longo dos anos, as doenças infecciosas de etiologia viral em canídeos e felídeos selvagens tem aumentado devido a alterações em seu *habitat* e ao maior contato com animais domésticos.

Já existem relatos mostrando alta prevalência de anticorpos para CPV em populações de canídeos selvagens em Minas Gerais, e para

FPV em felídeos selvagens mantidos em zoológicos ou unidades de conservação.

A alta resistência dos parvovírus, além do modo de transmissão que requer contato apenas com as fezes de animais infectados, são características que facilitam a disseminação destes vírus.

Os carnívoros não domésticos infectados por parvovírus podem atuar como reservatórios destes vírus, servindo como fonte de infecção ou fornecer caminhos evolutivos alternativos que favorecem o aparecimento de vírus pandêmicos.

Este projeto tem como objetivos realizar o diagnóstico e a caracterização molecular das variantes de parvovírus detectadas em canídeos e felídeos selvagens do Parque Nacional de Itatiaia.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Um total de 160 amostras fecais coletadas nos anos de 2016, 2017 e 2018, no Parque Nacional de Itatiaia (PNI) foram analisadas.

De acordo com o método de tricologia, as amostras fecais foram provenientes das seguintes espécies animais: 95 de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), 43 de gato-do-mato-pequeno (*Leopardus guttulus*), 13 de cão doméstico (*Canis familiaris*), dois de cachorro do mato (*Cerdocyon thous*), um de raposa sul-americana (*Lycalopex sp*) e seis de outros carnívoros.

A partir das suspensões fecais a 10% em solução Tris-Ca⁺⁺ 0,01M pH 7,2, procedeu-se a extração do DNA viral por meio do *High Pure PCR Template Preparation kit* (Roche Life Science), conforme instruções do fabricante. O

DNA foi armazenado a -20°C e utilizado nas reações de amplificação (PCR) para detecção do genoma viral.

A PCR foi realizada com o par de iniciadores 555For/555Rev (4003-4585), o qual amplifica um fragmento de 583bp do gene que codifica a proteína de capsídeo VP2, nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C por 10min, seguida de 35 ciclos a 94°C/30s, 50°C/1min, 72°C/1min e uma extensão final de 72°C por 10min. Inicialmente, 107 amostras foram testadas e todas foram negativas.

Para aumentar a possibilidade de detecção do genoma viral, foi necessário implementar a PCR com os iniciadores CPV-For/CPV-Rev, que amplificam um fragmento de 93pb do gene que codifica a proteína VP2. A PCR foi realizada nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C por 5min, seguida de 35 ciclos a 94°C/30s, 55°C/30s, 72°C/30s e uma extensão final de 72°C por 10 min. Outras 83 amostras foram testadas e foram negativas.

A fim de avaliar a presença de possíveis inibidores da PCR nas fezes coletadas do ambiente, oito suspensões fecais a 10% foram preparadas a partir da amostra 238 de lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*). Cada suspensão fecal foi contaminada artificialmente com diferentes concentrações da vacina Vanguard® Plus 10 (Zoetis): bruta ou nas seguintes diluições: 10⁻¹ a 10⁻⁷. A seguir, procedeu-se a extração do genoma viral de duas maneiras: (a) utilizando o *High Pure PCR Template Preparation kit* (Roche Life Science) conforme instruções do fabricante e (b) realizando um tratamento prévio da suspensão fecal com fenol/clorofórmio. A PCR foi realizada com o par de iniciadores CPV-For/CPV-Rev e o DNA extraído de cada suspensão foi testado: (a) não diluído (bruto), (b) diluído a 1/10 e (c) diluído a 1/100 em água H₂O *Nuclease-Free*.

A reação foi positiva a partir do DNA diluído 1/100 extraído da suspensão fecal contaminada com a vacina bruta. O tratamento prévio da suspensão fecal com fenol/clorofórmio antes da utilização do kit de extração do DNA, permitiu a observação de banda com o DNA diluído a 1/10, mostrando que tal tratamento ajudou a remover possíveis inibidores da reação.

Os nossos resultados mostram que os iniciadores rotineiramente utilizados no laboratório para detectar o genoma dos

parvovírus em amostras fecais de cães e gatos diarreicos não foram eficientes para este estudo. Outro ponto a ser considerado é a presença de inibidores da reação de amplificação em amostras coletadas no ambiente.

CONCLUSÕES:

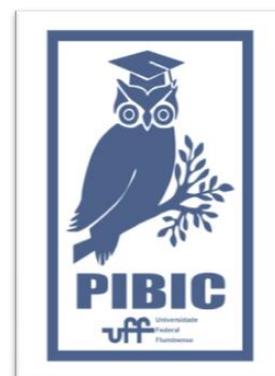
Não foi possível confirmar a circulação do Parvovirus de carnívoros nos canídeos e felídeos selvagens do Parque Nacional de Itatiaia (PNI).

Esse resultado se deve ao fato de que, provavelmente, as amostras foram coletadas de animais sem sintomatologia, e que, ao contrário, dos animais diarreicos, não eliminam alta concentração de partículas virais nas fezes. Não é possível determinar quanto tempo estas amostras estavam no solo antes da coleta, sob efeito das variações climáticas.

Além disso, estes animais já podem ter entrado em contato com o agente e não estarem em momento de eliminação de partículas virais nas fezes, já que estudos sorológicos demonstram a circulação do vírus nos animais selvagens em vários biomas do Brasil.

Este monitoramento é importante pois estes vírus tem a capacidade de infectar diferentes espécies e de sofrer mutações, que podem alterar a virulência das variantes em circulação, e a capacidade das vacinas atuais em conferir proteção contra estas novas variantes.

Agradecimentos: CNPq, PROPPI-UFF





Ciências Agrárias

Expressão Imuno-histoquímica de Marcador Biológico de proliferação celular em Neoplasias Mamárias Malignas de Gatas

Thamires Alves Dias, Paula Teixeira Siqueira, Vanessa Araujo de Moraes, Simone Carvalho dos Santos Cunha, Kássia Valéria Gomes Coelho da Silva, Ana Maria Reis Ferreira.

Setor de Anatomia Patológica Veterinária/ Deptº. de Patologia e Clínica Veterinária (MCV), Faculdade de Veterinária, UFF

INTRODUÇÃO:

A neoplasia mamária é o terceiro tumor mais comum em felinos, ficando atrás apenas das neoplasias hematopoiéticas e cutâneas. Possui maior prevalência em fêmeas com mais de 8 anos. Aparentemente está associada aos hormônios esteróides endógenos e exógenos. A maioria dos tumores de mama em gatas é de origem maligna (> 85%) e possuem um elevado potencial metastático e alta taxa de mortalidade. O tratamento primário é cirúrgico, podendo ser a retirada do nódulo (lumpectomia) ou a retirada de toda a cadeia mamária (mastectomia radical), estando a mastectomia radical relacionada a uma menor recidiva tumoral. O prognóstico está relacionado com o grau de malignidade tumoral, tamanho do nódulo, invasão, presença de metástase, expressão de marcadores da proliferação e presença de receptor hormonal.

O câncer de mama felino é muito similar ao câncer mamário em humanos no que diz respeito à ocorrência, histopatologia e padrão metastático (Nordin et al., 2017). Por isso, as neoplasias mamárias de gatas são propostas como modelos relevantes para entender o comportamento biológico da doença em humanos.

A análise imuno-histoquímica pode ser utilizada para avaliar a taxa de proliferação e morte celular nos tumores, embasando o diagnóstico e prognóstico, em conjunto com a análise histopatológica. Neste trabalho, foi utilizado o marcador biológico PCNA (Antígeno nuclear de proliferação celular), que avalia a atividade do ciclo celular.

Este trabalho teve como objetivo classificar nódulos mamários felinos de acordo com as determinações da Organização Mundial da Saúde (OMS) para o câncer de mama humano

(2012), e também foram classificados de acordo com Misdorp (1999). O trabalho também objetivou avaliar a classificação do grau histológico, bem como avaliar da expressão do marcador PCNA, para determinar a proliferação celular tumoral em neoplasias mamárias malignas felinas. Assim estes achados histopatológicos e imuno-histoquímicos permitirão obter prognósticos mais preciso e uma melhor orientação para a conduta clínico-cirúrgico.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram selecionadas 25 gatas que apresentavam nódulos mamários, independente da raça, idade ou estado reprodutivo. Dentre as que tinham idade conhecida, apresentavam média de 10anos. Quando na presença de mais de um nódulo por animal, tais nódulos foram coletados e selecionados para esse estudo, totalizando 32 amostras. As amostras foram processadas e incluídas em parafina, coradas pela Hematoxilina-Eosina. Para avaliação imunoistoquímica,foi utilizado o anticorpo anti-PCNA,

Foram calculadas as médias do tempo de sobrevida e do tempo livre da doença. Em média, dentre os dados obtidos, a sobrevida foi de 640dias e o tempo livre da doença foi de 653dias, aproximadamente.

As amostras mamárias foram analisadas e diagnosticadas como adenocarcinoma mamário e, além disso, foram classificados segundo a OMS (2012), onde 46,2% das amostras foram de carcinoma tipo misto invasivo, 19,2% de carcinoma ductal sem tipo especial, 23,1% de carcinoma papilar invasivo, 3,8% de carcinoma papilar intra-ductal, 3,8% de carcinoma cribriforme, 3,8% de carcinoma com diferenciação apócrina. Quanto ao grau de

malignidade histológica, das amostras consideradas, 19,2% eram de grau I, 46,2% de grau II e 34,6% de grau III.

De acordo com Misdorp (1999), 84,6% das amostras foram diagnosticadas como carcinoma túbulo-papilar, 7,7% como carcinoma sólido e 7,7% como carcinoma cribriforme. Além disso, foi avaliada a presença de formação tubular, invasão local dos tumores, anisocitose citoplasmática, alterações a nível nuclear como bi/multinucleação e formato, nucléolo evidente ou não, macro ou múltiplo, presença de necrose, úlcera, tipos de mitose e comprometimento de linfonodo sentinela.

As variáveis histopatológicas avaliadas, foram submetidas à análise de associação estatística onde não foi observada associação entre formação tubular, invasão local, pleomorfismo celular, cromatina, necrose, macro-núcléolo, invasão local e comprometimento do linfonodo com os diagnósticos OMS, 2012 e Misdorp, 1999 ($p > 0,05$). Em estudos futuros pode se fazer necessário um maior número de amostras para se provar a associação dos alguns parâmetros utilizados no presente estudo. Contudo, a observação de bi/multi-nucleação nas neoplasias de gata, associado ao diagnóstico proposto pela OMS para neoplasias mamárias em mulher mostrou ter associação estatística ($p=0,039$), assim como o índice mitótico e diagnóstico OMS ($p=0,022$), o grau histológico e os diagnósticos propostos por esta ($p=0,006$). Isso mostra a importância da análise destes parâmetros na histopatologia e a necessidade de melhor caracterizar essas neoplasias felinas com auxílio de consensos mais perscrutado.

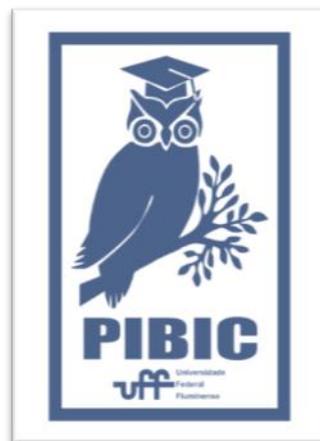
Os resultados observados para o marcador PCNA demonstraram uma positividade de 27,74% e uma negatividade de 72,25%, onde foram consideradas negativas as células não marcadas e as células fracamente marcadas. Também foi avaliada a frequência de marcação positiva nas neoplasias malignas de acordo com sua classificação histológica. De acordo com os resultados, o carcinoma papilar invasivo apresentou em média 30,9% de células positivas, seguido do carcinoma tipo misto invasivo que apresentou 29,4%, carcinoma papilar intra-ductal apresentou 24,1%, carcinoma cribriforme apresentou 23,6% e por último o carcinoma ductal invasivo STE, apresentando 21,1%.

CONCLUSÕES:

Todos os achados indicaram que a frequência das neoplasias mamárias malignas em gatas é alta e que o prognóstico é reservado tendo em vista tanto o tempo de sobrevivência como o tempo livre da doença. Características histológicas como: grau de invasão local, comprometimento de linfonodo sentinela, alta contagem mitótica, alterações de citoplasma e núcleo e a fácil visualização do nucléolo corroboraram para a classificação do grau histológico e possíveis associações entre morfologia e diagnóstico. A análise imuno-histoquímica se mostrou relevante, pois demonstrou por meio da marcação com o anticorpo anti-PCNA, que os tumores malignos apresentam uma alta taxa de proliferação celular. Estes achados histopatológicos e imuno-histoquímicos poderão futuramente contribuir para um prognóstico mais preciso e um melhor direcionamento para a conduta clínico-cirúrgica.

Agradecimentos:

Agradeço ao CNPq, Proppi-UFF; FAPERJ, à minha orientadora, à doutoranda Vanessa Araujo de Moraes e à professora Kássia Valéria Gomes Coelho da Silva por toda a ajuda durante o projeto. Agradeço também ao setor de Anatomia Patológica, por fornecer toda a infraestrutura necessária para que este projeto pudesse ser realizado.





Ciências Agrárias

Ultrassonografia Doppler dos rins de gatos domésticos (*Felis catus* Linnaeus, 1758) nefropatas crônicos com lesões parenquimatosas focais

Mariana Ciúfo Iglesias, Márcia Carolina Salomão Santos

MCV/Fac de Veterinária/ Diagnóstico por Imagem (Huvet-UFF)

INTRODUÇÃO: A doença renal crônica (DRC) ocorre quando há comprometimento funcional e/ou estrutural decorrente de um processo prolongado de pelo menos três meses de duração. A *International Renal Interest Society* (IRIS) estabeleceu quatro estágios de evolução de acordo com uma série de parâmetros entre eles a imagem alterada dos rins (WAKI et al, 2010). O exame ultrassonográfico permite a avaliação detalhada da morfologia renal e por meio do Doppler pode estimar a perfusão renal (CARVALHO, CERRI, CHAMMAS, 2009). O índice de resistividade (IR) é um dos parâmetros mais sensíveis de avaliação das doenças decorrentes das alterações de fluxo renal e pode ser um marcador de dano histológico em várias condições patológicas (GRANATA et al., 2014). O valor de corte de IR de 0,639 foi útil para estabelecer um diagnóstico preliminar da DRC em estudo com 18 gatos (MATOS, AZEVEDO, CARREIRA, 2017). Os rins podem ser acometidos por lesões parenquimatosas difusas ou focais tais como cistos, abscessos, granulomas, nódulos, calcificações e infarto que podem ser identificadas ao exame ultrassonográfico (FELICIANO et al, 2008). No entanto, a importância das lesões parenquimatosas focais renais na DRC ainda não foi elucidada. O objetivo do presente estudo foi avaliar a morfologia renal e determinar o IR por meio do exame ultrassonográfico com Doppler em gatos com DRC e lesões parenquimatosas focais renais.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O estudo foi desenvolvido no Setor de Ultrassonografia do Hospital Universitário Prof. Firmino Mársico Filho da Faculdade de Veterinária da UFF (HUVET-UFF) e foram incluídos somente gatos com doença renal crônica (DRC) com ou sem LPF. Todos foram

submetidos ao exame ultrassonográfico Doppler renal para identificação das lesões parenquimatosas focais renais tais como cisto, abscesso, granuloma, nódulo, calcificação e infarto que foram consideradas como presente ou ausente, independente da especificidade da lesão. Apesar da DRC ser frequente na rotina da Clínica de Felinos, o número de gatos incluídos no período do estudo foi pequeno com 10 animais. Isso ocorreu possivelmente devido a falha na triagem desses animais para o estudo e fatores técnicos relacionados ao tamanho dos vasos para análise Doppler em gatos não colaborativos. Um outro fator relacionado aos animais é que eles se encontravam com escore de condição corporal normal a sobrepeso, o que sugere que a doença ainda não os havia debilitado fisicamente, aumentando sua resistência ao posicionamento.

Por sua vez, o grau de alteração morfológica renal não interferiu na obtenção dos dados Doppler do presente estudo, visto que a arquitetura renal estava preservada na maioria deles (90%). Sabe-se que quanto mais avançada a lesão morfológica, maior a dificuldade de realizar a avaliação por meio do Doppler.

Ao exame ultrassonográfico em modo B (figura 1) observou-se uma ocorrência alta (70%;7/10) de lesões parenquimatosas focais renais (LPF), sendo que a creatinina estava aumentada em 85% (6/7) dos animais. Em contrapartida nos três animais nos quais as LPF não foram evidenciadas, a creatinina encontrava-se aumentada somente em um. Apesar do pequeno número de animais, isso parece indicar uma tendência das LPF funcionarem como biomarcadores do agravamento da lesão renal (tabela 01).

Na avaliação Doppler (figura 2), os dados aparentemente apresentaram incongruência visto que nos 5 gatos com LPF em que se obteve o IR, um apresentou IR normal (IR=

0,54) e 2 limítrofes (IR=0,64), as LPF eram bilaterais; e nos 2 animais com IR aumentado (IR=0,75) as LPF eram unilaterais (tabela 01).

Tabela 01 – Lesões parenquimatosas focais renais (LPF), índice de resistividade renal (IR), concentração plasmática da creatinina(CREAT) e estágio da doença renal crônica (DRC) nos os gatos atendidos no Hospital Universitário de Medicina Veterinária Prof. Firmino Mársico Filho da Faculdade de Veterinária da UFF (HUVET-UFF), Niterói-RJ, 2018/2019

Ans	CREAT	US		ESTÁGIO DRC
		LPF	IR	
1	2,7	AUS	X	2
2	1,5	BILAT	X	1
3	1,2	AUS	X	1
4	1,7	AUS	0,71	2
5	3,7	BILAT	0,64	3
6	2,2	BILAT	X	2
7	2,5	BILAT	0,64	2
8	2,2	UNI	0,75	2
9	3,1	UNI	0,76	3
10	2,3	BILAT	0,54	2
Val ref	0,8-1,8	-	0,639	-

Ans – animais; Val ref – valores de referência

CONCLUSÕES:

Concluiu-se que apesar do pequeno número de gatos estudados, a ocorrência das LPF foi alta (70%) e que a sua relação com o grau de lesão renal permanece indeterminada. No entanto, os dados do presente estudo sugerem uma tendência das LPF servirem de biomarcadores da DRC. Desse modo, a continuação do estudo com um maior número de animais é fundamental para a melhor compreensão dos resultados obtidos.

Agradecimentos:

Ao Hospital Universitário Prof. Firmino Mársico Filho da Faculdade de Veterinária da UFF (HUVET-UFF) pelo apoio na realização deste estudo.

A PROPPI/UFF pela oportunidade de desenvolver o estudo.

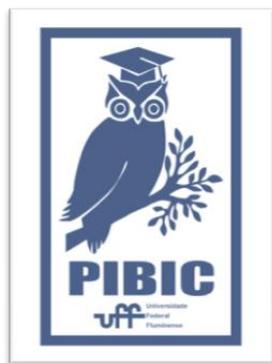


Figura 1: Exame ultrassonográfico do rim esquerdo de um gato com doença renal crônica (DRC) com diminuição das dimensões. Setor de Ultrassonografia do Hospital Universitário de Medicina Veterinária Prof. Firmino Mársico. (HUVET-UFF).

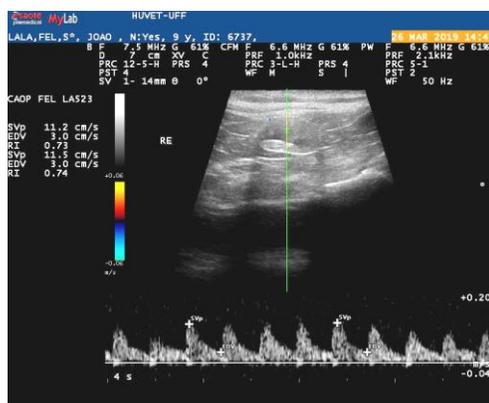


Figura 2: Doppler espectral de artéria intrarrenal do rim esquerdo de um gato com índice de resistividade aumentado. Setor de Ultrassonografia do Hospital Universitário de Medicina Veterinária Prof. Firmino Mársico. (HUVET-UFF).

Referências Bibliográficas:

- CARVALHO, CF; CERRI, GG; CHAMMAS, MC. Parâmetros Doppler velocimétricos das artérias renais e da aorta abdominal em gatos da raça persa. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.4, p.1105-1110, jul, 2009
- FELICIANO, M.A.R.; LEITE, C.A.L.; SILVEIRA, T.; CAVALCANTI, G.A.O.; VARASCHIN, M.S.; VICENTE, W.R.R. Doença renal medular cística em uma cadela Yorkshire Terrier: relato de caso. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, n.4, p.832-836, 2008.
- GRANATA, A; ZANOLI, L; CLEMENTI, S.; FATUZZO, P.; NICOLO, DI. Resistive intrarenal index: myth or reality? *Brazilian Journal Radiology*, v. 87, p. 1-7, 2014.
- MATOS, I.; AZEVEDO, P.; MIGUEL CARREIRA, L. Pilot study to evaluate the potential use of the renal resistive index as a preliminary diagnostic tool for chronic kidney disease in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, p. 1-8, 2017.
- WAKI, M.F; MARTORELLI, C.R.; MOSKO, P.E.; KOGIKA, M.M. Classificação em estágios da doença renal crônica em cães e gatos - abordagem clínica, laboratorial e terapêutica. *Ciência Rural*, v.40, n. 10, p. 2226-2234, 2010.



Grande área do conhecimento: Ciências agrárias

Título do Projeto: Estudo da Micoplasmose e lentivirose em caprinos e ovinos.

Autores: VIGNOLI, J.A.¹; SILVA, N.X.¹; FIGUEIRA, A.A.¹; DIAS, T.S.²; BALARO, M.F.A.²; MACHADO, L.S.²; CUNHA, N.C.²; NASCIMENTO, E.R.²

¹Universidade Federal Fluminense

²Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública (MSV)

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde/ Faculdade de Veterinária/ Laboratório de Epidemiologia Molecular.

INTRODUÇÃO

Diante da importância socioeconômica da caprinovinocultura brasileira, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), criou o Regulamento Técnico do Plano Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos (PNSCO) visando o controle ou erradicação de doenças nos rebanhos de caprinos e ovinos estabelecendo ações sanitárias e de vigilância epidemiológica. Dentre as doenças presentes no programa destacam-se as micoplasmoses e lentivirose, enfermidades também listadas na lista de doenças da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) e caracterizadas por lesões articulares, pulmonares, oculares e na glândula mamária.

Assim sendo, foram coletadas amostras de 76 animais de 8 propriedades do sistema intensivo e semi-intensivo, objetivando-se a detecção sorológica e/ou molecular para lentivírus e molecular para *Mycoplasma* spp. em pequenos ruminantes (Quadro 1). As amostras de sangue foram centrifugadas, dessoradas e submetidas a IDGA enquanto amostras com o anticoagulante, enviadas para a realização da Nested-PCR. Além disso, foram obtidos suabes nasais e reprodutor, leite, glândula mamária e pulmão visando a detecção genérica de Mollicutes por PCR.

Quadro 1. Amostras de caprinos e ovinos coletadas por propriedade.

Propriedades	Caprinos	Ovinos
A	0	11
B	15	0
C	1	0
D	2	0
E	20	0
F	21	0
G	1	0
H	5	0
Total	65	11
	76	

O teste de IDGA para anticorpos foi realizado utilizando o kit da Biovetech (Biovetech®, Recife, PE) de acordo com especificações do fabricante. A extração de DNA de sangue foi feita de acordo com uma adaptação de Elisei et al (2010), enquanto para suabes e leite foi realizada a extração térmica, adaptada de Buim, M. R. et al (2009). As reações de PCR foram feitas de acordo com Kuppeveld, F. J. M (1992); Barlough et al. (1994); Rimstad et al. (1993); Sonigo et al. (1985).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Do total de 76 amostras analisadas, 77,64% (59/76) amostras eram do sistema intensivo e 22,36% (17/76) do semi intensivo. No sistema intensivo, 13,56% (8/59) foram positivas para *Mycoplasma* spp pela PCR e 38,98% (23/59) para lentivírus pelo IDGA e/ou PCR, já no sistema semi-intensivo não houve detecção de *Mycoplasma* spp pela PCR e 35,29

% (6/17) foram positivas a IDGA e/ou PCR. A frequência, de ambas enfermidades, nessas propriedades justifica-se pelo confinamento destes animais, facilitando a disseminação tanto de *Mycoplasma* spp., quanto de lentivírus no rebanho. Além disso, a amamentação coletiva de cabritos e cordeiros, facilita o contato e transmissão dos lentivírus.

Foram avaliados em ambas propriedades amostras de caprinos e ovinos, sendo deste total de animais 10,52% (8/76) dos animais positivos para *Mycoplasma* spp. e 49,47% (30/76) para Lentivírus. Para lentivíroses, 10,93% (7/64) apresentaram reatividade pelo IDGA e 36% (27/75) positividade pela PCR. O número de animais que possuíram concomitantemente reatividade ao IDGA e positividade a PCR foi de 5,26% animais (4/76). Este fato pode ser explicado pela soroconversão tardia desses animais ou por estarem na fase inicial da infecção. Além disso, o IDGA necessita para ser identificado de uma quantidade relativamente alta de anticorpos ocorrendo ou não reação até 18 meses. Já a PCR é capaz de detectar o DNA proviral nos estágios iniciais da doença. Outra provável justificativa para o baixo percentual de animais detectados pelo IDGA poderia ser a tolerância ao vírus quando a infecção ocorre nos primeiros meses da gestação.

Dos 10 ovinos testados à PCR para *Mycoplasma* spp., 70% (7/10) foram positivos, sendo todos da propriedade A. Desta mesma propriedade 11 animais foram testados para lentivírose por PCR, porém foram negativos. Enquanto que, dos 14 caprinos testados para *Mycoplasma* spp., 7,14% (1/14) foram positivos, sendo este animal da propriedade C. Em relação a reatividade dos soros testados para CAE, a positividade foi de 10,93% (7/64), sendo 10% (2/20) da propriedade E, 26,67% (4/15) da propriedade B e 100% (1/1) da propriedade G. As propriedades D, F e H obtiveram resultados negativos a IDGA. Na realização do teste de Nested-PCR, das 63 amostras de caprinos analisadas, 42,85% (27/63) dos animais foram positivos para lentivírus de pequenos ruminantes, sendo 20% (3/15) da propriedade B, 100% (2/2) da propriedade D, 90% (18/20) da propriedade E e 80% (4/5) da propriedade H. Os estabelecimentos F e A obtiveram resultados negativos para todos os animais testados (Tabela 1).

Tabela 1. Positividade pela PCR para *Mycoplasma* spp e por IDGA e PCR para lentivíroses em propriedades de ovinos e caprinos

Enfermidade	Espécies	
	Ovinos	Caprinos
Mycoplasma PCR n/N (%)	7/10 (70%)	1/14 (7,14%)
Lentivirus PCR n/N (%)	0/11 (0%)	27/63 (42,85%)
Lentivirus IDGA n/N (%)	-	7/64 (10,93%)
Lentivirus IDGA+PCR n/N (%)	-	4/64 (6,25%)

De acordo com os resultados obtidos, apesar da importância do IDGA em levantamentos epidemiológicos e na triagem de animais devido seu baixo custo, alta praticidade e alta especificidade, esta técnica não deve ser utilizada isoladamente na aquisição de animais.

CONCLUSÕES:

Foi possível verificar infecção por *Mycoplasma* spp. e Lentivírus de Pequenos Ruminantes em propriedades alocadas no estado do Rio de Janeiro e Minas Gerais. O diagnóstico molecular e sorológico, evidenciaram a presença dos agentes etiológicos, principalmente no caso dos lentivírus.

AGRADECIMENTOS:

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica.

