

# CIÊNCIAS AGRÁRIAS

REVISTA PIBIC 2018





## Ciências Agrárias

### Risco-benefício do consumo de ostras cultivadas na região do Atlântico Paraense – EPA e DHA x Mercúrio

Isabelle Soares Souza de Assis, Emília do Socorro Conceição Lima de Nunes, Osnan Lennon Lameira Silva, Eliane Teixeira Mársico, Micheli da Silva Ferreira

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

#### INTRODUÇÃO:

Um aspecto que gera preocupação para a saúde pública na região norte do Brasil é a contaminação do curso hídrico por contaminantes químicos. Devido ao comportamento filtrador, as ostras são consideradas bons indicadores de biodisponibilidade de contaminantes, podendo ser utilizadas como biomonitoradores em ecossistemas aquáticos. No estado do Pará, a principal espécie de ostra cultivada é a *Crassostrea gasar* (também conhecida por *C. brasiliiana*), popularmente conhecida como a ostra do mangue. É uma atividade de fundamental importância para o desenvolvimento sustentável e fonte de renda para as comunidades de ostreicultores familiares na região. Assim, com base em diversos estudos realizados na região norte, foi possível constatar contaminações mercuriais em diversas espécies de peixes consequentes das atividades industriais e minerais do século passado, e devido à grande interligação dos rios paraenses, tais contaminantes alcançaram locais bem distantes das fontes de utilização do mercúrio (Hg). No entanto, estudos sobre a contaminação química em ostras cultivadas na região norte ainda não foram realizados, demandando a necessidade de pesquisas sobre contaminação mercurial nesses organismos. Devido à capacidade de filtração e bioacumulação das ostras e a não depuração destes contaminantes presentes na água, o consumo desses organismos pode representar fontes de intoxicação humana por mercúrio.

#### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

As médias e desvios padrão, respectivamente, dos dados coletados das ostras de Augusto Corrêa foram os seguintes: comprimento de 1,19 cm ( $\pm 1$ ), largura de 7,12 cm ( $\pm 0,56$ ), altura de 4,43 cm ( $\pm 0,43$ ), peso bruto de 193,83 g ( $\pm 26,91$ ), peso líquido de 21,11 g ( $\pm 4,45$ ) e a concentração de Hg do músculo foi de 0,0041 mg/kg ( $\pm 0,0022$ ). As médias e desvios padrão, respectivamente, dos dados coletados das ostras de Curuçá foram as seguintes: comprimento de 9,96 cm ( $\pm 1,37$ ), largura de 6,31 cm, altura de 3,59 cm ( $\pm 0,45$ ), peso bruto de 121,75 g ( $\pm 28,32$ ), peso líquido de 12,37 g ( $\pm 3,33$ ) e a concentração de Hg do músculo foi de 0,0179 mg/kg ( $\pm 0,0065$ ). Observou-se que a concentração de Hg em Curuçá foi maior, onde há maior proximidade com áreas urbanas, próximo de comunidades habitáveis, e mais distante da região oceânica, enquanto que Augusto Corrêa tem maior proximidade com a região oceânica e mais distante de centros urbanos. No entanto, a grande maioria dos rios paraenses se cruzam e trazem consigo a contaminação de zonas antigas, oriundas de atividades garimpeiras, por exemplo. Dado ao consumo de ostras ser comum na região, é importante considerar a concentração do contaminante e a frequência de consumo do pescado pela população. No Brasil, o limite máximo de mercúrio para ostras é de 0,5 mg kg<sup>-1</sup> (ANVISA, 1998, 2013; MAPA, 1999; WHO, 1996). Por conta disso, foi feita uma avaliação de risco à saúde humana, com metodologia desenvolvida por órgãos internacionais para proteger a saúde dos consumidores (USEPA, 1989).

A avaliação de risco resultou, em ambas regiões, quociente de perigo (HQ) menor que 1, portanto, o consumo de ostra nas regiões estudadas mostra a potencial inexistência da

ocorrência de efeitos nocivos à saúde no que se refere à contaminação mercurial.

## **CONCLUSÕES:**

Através dessas análises foi possível biomonitorar as ostras e mostrou-se a comprovação de que há a presença de mercúrio nas ostras das regiões estudadas, no Pará, mesmo em baixas quantidades.

Para evitar risco à saúde da população consumidora de ostras da região, a contaminação ambiental por mercúrio em ambientes aquáticos deve ser constantemente avaliada, principalmente em regiões em que há o consumo de pescado, como no Pará, onde a ostreicultura é um dos meios de sustento. É preciso aliar o biomonitoramento a análises que avaliem o risco à saúde humana de acordo com a frequência de consumo.

De acordo com a localização geográfica, notou-se que a região de maior proximidade com centros urbanos, Curuçá, apresentou maior concentração de Hg comparado com o cultivo de ostras do município Augusto Corrêa. Ainda assim ambas as regiões não apresentaram risco à saúde humana quanto ao consumo dessas ostras.

## **Agradecimentos:**

Em especial à minha orientadora Micheli da Silva Ferreira, por ter me dado a oportunidade de conhecer a área de tecnologia de alimentos. Aos pesquisadores do projeto, pois sem o trabalho em equipe nada teria acontecido. À Proppii pela concessão da bolsa.

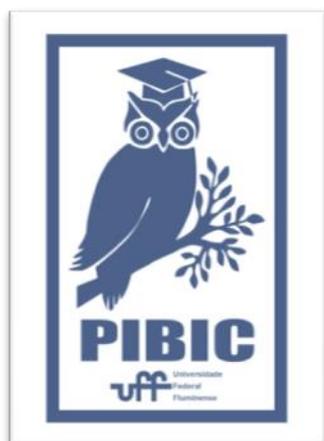


Figure 1: Logo PIBIC



**Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias**

**Avaliação da concentração sérica de haptoglobina em potros muares com e sem evidências clínicas de doenças respiratórias.**

**Mariana Parrini Ferreira; João de Fraipont Castañon; Daniel de Barros Macieira; Daniel Augusto Barroso Lessa; Nayro Xavier de Alencar.**

**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:**

As doenças que atingem o Sistema Respiratório são de grande incidência em equinos, podendo ser de causas distintas, mas principalmente por infecções secundárias por bactérias. Tais casos de infecções do Sistema Respiratório são descritas tanto em cavalos adultos quanto em muares adultos quase na mesma proporção, contudo existem poucos registros de estudos sobre essas doenças em potros muares.

A necessidade de estudar os diferentes efeitos em potros de muares e potros de cavalos se dá pelas pequenas, porém significativas diferenças anatômica e fisiológica do trato respiratório desses animais. A existência dessas diferenças pode levar a manifestações e intensidades sintomáticas diferentes e alterações para o tratamento. Há indícios de que muares em algumas situações apresentam certo atraso no aparecimento de sinais clínicos, dificultando o tratamento.

Para identificação de marcadores para inflamação e assim detectar possíveis infecções, é usado o método de identificação bioquímica de proteínas de fase aguda onde tais proteínas são liberadas na corrente sanguínea em resposta a inflamação e sua quantidade é monitorada, visto que sua concentração é proporcional à gravidade da doença (CRISMAN, 2008).

A resposta de fase aguda é uma reação inflamatória não específica e complexa, que visa minimizar o dano tecidual, melhorar o processo de reparação e restaurar a homeostase após infecção, trauma ou estresse. Esta resposta é estimulada quando células lesadas liberam metabólitos do ácido araquidônico e produtos do estresse oxidativo. Em seguida ocorre a produção de citocinas, tais como as interleucinas IL-1 $\beta$ , IL-6 e o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF-

$\alpha$ ), a partir de macrófagos e monócitos. Estas citocinas são responsáveis por muitos sinais cardinais da inflamação. O aumento da circulação destes mediadores pró-inflamatórios, em especial a IL-6, estimula a reação de fase aguda hepática, e como consequência reduz a síntese de albumina (ECKERSALL, 2000).

O perfil da resposta de fase aguda da haptoglobina em equinos demonstra um aumento na concentração desta proteína nos casos de resposta inflamatória sistêmica (ECKERSALL, 2008; FAGLIARI et al., 2008), podendo ser monitorada para avaliar o estado de saúde desses animais, medindo gravidade e velocidade de desenvolvimento do quadro inflamatório. Sendo essa a razão do trabalho, obter respostas se o mesmo ocorre para potros muares.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

As amostras de soro utilizadas foram provenientes de potros muares submetidos a uma avaliação endoscópica do trato respiratório e posterior lavado traqueal para avaliação citológica para separar os animais em grupo de sadios e doentes, esses dados foram tabelados e utilizados como guia nas dosagens. O soro foi separado por centrifugação e estocado a  $-80^{\circ}\text{C}$  no ano de 2011 e 2012 e processado em 2017. A determinação da ceruloplasmina foi realizada conforme técnica padronizada (Sunderman e Nomoto, 1970). As amostras foram dosadas e separadas em dois grupos (T1 e T2), provenientes de duas coletas consecutivas com um intervalo de 60 dias do mesmo animal. Todas as dosagens foram realizadas em duplicata. Os valores obtidos foram tabelados para posterior análise.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os grupos foram confrontados estatisticamente entre T1 Sádios contra T2 Sádios (78,85±24,57 vs 131,82± 59,49); T1 Doentes contra T2 Doentes (69,62±43,67 vs 112,64±52,05); entre o grupo total de Sádios contra o total de Doentes (110,68±60,36 vs 108,25±56,81).

Após análise dos resultados não foram encontradas diferenças significativas entre os animais sádios contra doentes (p=0,896) e entre doentes de cada tempo (p=0,085). Porém, ao se analisar o efeito idade nos animais sádios (T1 vs T2) foi encontrado um aumento significativo entre os dois tempos (p=0,048).

De acordo com alguns trabalhos, a concentração sérica de haptoglobina está diretamente relacionada com a gravidade da doença (CRISMAN, 2008), e já foram descritos em outros trabalhos o aumento sérico desta proteína em diferentes infecções em humanos em algumas espécies animais, como coelhos infectados com *Escherichia coli* (ECKERSALL, 2000). Contudo, pôde-se notar que é possível haver respostas diferentes dessa proteína de fase aguda para outras espécies de animais e outros quadros infecciosos, já que não foi constatada qualquer relação da sua concentração com o estado de morbidade do animal nessa pesquisa.

## CONCLUSÕES:

De acordo com os resultados obtidos nessa pesquisa é possível afirmar que ocorre um aumento na concentração sérica de Haptoglobina com o avanço da idade de potros muares sádios, porém não há diferença na concentração da mesma em potros muares com e sem evidência citológica de doença inflamatória das vias aéreas

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Cerón,, J. J., Eckersall,, P. D. and Martínez-Subiela, S. (2005), Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives.

Veterinary Clinical Pathology, 34: 85–99. doi:10.1111/j.1939-165X.2005.tb00019.x

- CRISMAN, M.V.; SCARRATT, W.K.; ZIMMERMAN, K.L. Blood proteins and inflammation in the horse. Vet. Clin. Equine, v.24, p.285-297, 2008.
- ECKERSALL, P.d.. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. **Revue de Médecine Vétérinaire**, Glasgow, v. 7, n. 151, p.577-584, jan. 2000.
- SANCHEZ, N.M.R.; FERNANDEZ-CONDE, M.E.; OLIVER A.C.; HURTADO, S.J.A.; SAMANIEGO, M.M. Alkaline phosphatase isoenzymes in serum and bronchoalveolar lavage from patients with bronchopulmonary disease. Anales de Medicina Interna, v.17, p.182-185, 2000.
- SUNDERMAN JR, F.W.; NOMOTO, S. Measurement of human serum ceruloplasmin by its p-phenylenediamine oxidase activity. Clinical Chemistry, v.16, p.903-910, 1970.
- Thiemann, A. Respiratory disease in the donkey. Equine Veterinary Education 2012; 24 162 (9):469-47

## Agradecimentos:

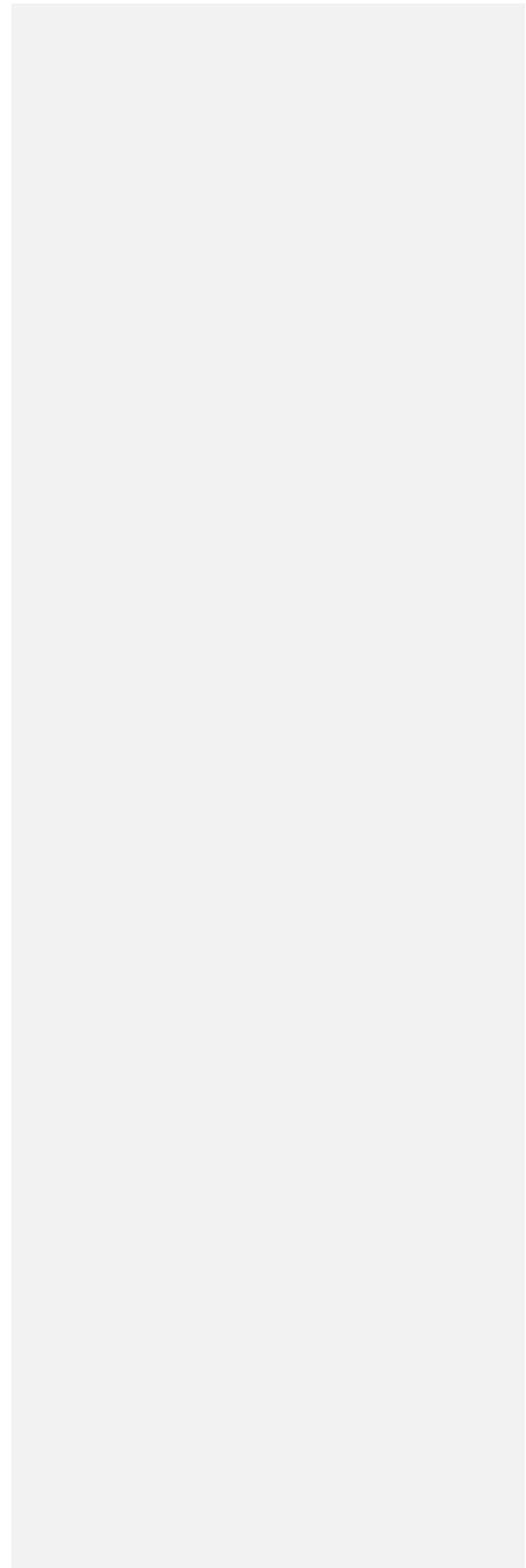
Ao grupo de pesquisa HIPIATRAS (CNPq/UFF);

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).

**Comentado [L1]:** Diminuir esses Logos!

**Comentado [L2]:** Diminuir esses Logos!





## Ciências Agrárias

### Investigação Clínico-epidemiológica, Molecular e Sorodiagnostics da Esporotricose Felina em uma Área Hiperendêmica

Larissa da Silva Mendonça, Giulia Maria dos Santos, Thayana Oliver Santos, Emylli Virginio, Pâmella Antunes de Macêdo-Sales, Márcia Ribeiro Pinto, Ricardo Luiz Dantas Machado, Elisabeth Martins da

Silva da Rocha, Leila Maria Lopes-Bezerra, Vivian dos Santos Baptista, Andréa Regina de Souza Baptista.

Departamento de Microbiologia e Parasitologia/Instituto Biomédico/Laboratório de Micologia Médica e Molecular e Centro de Investigação de Micro-organismos

**INTRODUÇÃO:** A esporotricose é a micose subcutânea mais prevalente da América Latina, sendo causada por fungos patogênicos do gênero *Sporothrix*. A presente investigação tem como tema central essa zoonose hiperendêmica, negligenciada, e que constitui problema de Saúde Pública no Brasil. Nela, foram estudadas populações felinas portadoras ou não da esporotricose, residentes em região geográfica pouco referida, apesar de área endêmica, quer seja quanto aos seus aspectos clínico-epidemiológicos ou ainda biológicos do seu agente etiológico. De fato, os dados gerados até o momento, em sua maioria, se concentram a partir da avaliação de pacientes assistidos pelo IPEC-FIOCRUZ, que é o centro de referência para o diagnóstico e o tratamento dessa micose. Atualmente no quadro epidemiológico do Rio de Janeiro, no qual está inserida a Região Metropolitana II ou Leste Fluminense, o gato continua desempenhando papel fundamental na manutenção da esporotricose, tanto como vítima quanto como veiculador da enfermidade, permanecendo a necessidade de estudos mais abrangentes sobre os diferentes aspectos da doença. Neste contexto, é de grande valia o desenvolvimento de metodologias que permitam o acompanhamento do sucesso terapêutico da esporotricose felina, cujo tratamento constitui importante desafio. Na tese apresentada foi pesquisada a aplicabilidade do ELISA com o antígeno SsCBF, anteriormente validado em pacientes humanos com grande sucesso, como ferramenta complementar e/ou alternativa para a

avaliação da resposta terapêutica na esporotricose felina e, portanto, passível de ser aplicada rotina clínica veterinária, em especial em uma região hiperendêmica.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram selecionados 185 felinos com lesões suspeitas de esporotricose, assistidos na Unidade de Referência no Diagnóstico da Esporotricose Animal (UDEA), subdivididos em portadores da micose laboratorialmente confirmada (GE+) e com diagnóstico negativo para a mesma (GE-). Para atender aos objetivos relativos ao follow-up e de acordo com a resposta terapêutica, 15 animais do GE+ foram divididos em dois subgrupos: resposta terapêutica satisfatória (RTS) e não satisfatória (RTNS). Parâmetros clínicos e laboratoriais foram monitorados, incluindo a citopatologia, a cultura micológica, a análise molecular do *Sporothrix*, assim como os níveis de IgG anti-SsCBF. Felinos machos foram mais acometidos (63,23%), assim como aqueles que residiam em casa com acesso à rua ( $p=0,0258$ ). O espirro ( $p=0,0347$ ; OR=2,71) e a dificuldade respiratória ( $p<0,001$ ) foram sinais clínicos mais frequentes no GE+, assim como o emagrecimento ( $p=0,0342$ ) e as lesões ulcerativas ( $p=0,0199$ ; OR=2,75). *S. brasiliensis* foi o único agente etiológico, sendo todos isolados pertencentes ao idiomorfo MAT 1-2. Quanto à investigação diagnóstica 67,10% pacientes do GE+ apresentaram sorologia concordante com o diagnóstico laboratorial positivo pelos métodos convencionais. A

sensibilidade do ELISA foi de 75,55% e a especificidade de 34,61%. Quando comparados os níveis de anticorpos anti-SsCBF no pré-diagnóstico com os obtidos no Último Follow-up, esses diferiram significativamente entre os grupos RTS e RTNS ( $p=0,0002$  e  $p=0,038$ ; respectivamente). Além disso foi detectada concordância clínico-sorológico-terapêutica, caso a caso.

## CONCLUSÕES:

Concluimos que a esporotricose no Leste Fluminense espelha a hiperendemia da região Metropolitana (Capital do Estado). Por fim, o ELISA baseado na detecção de IgG anti-SsCBF pode ser uma ferramenta importante, a ser incluída no diagnóstico da esporotricose felina por *S. brasiliensis*, uma vez que é capaz de diagnosticar e monitorar a resposta terapêutica em felinos com evoluções clínicas distintas, de modo independente da gravidade, sensível até mesmo nos casos de interrupção da terapêutica pelo tutor.

O diagnóstico e a terapêutica da esporotricose felina são cruciais à quebra da cadeia de transmissão dessa micose negligenciada, que representa grave problema de Saúde Pública no Brasil.

## Agradecimentos:

Os autores desejam manifestar sua gratidão aos pacientes felinos e seus tutores sem os quais seria impossível a realização deste estudo. Agradecemos ainda à Prefeitura Municipal de Niterói, em especial ao Centro de Controle de Zoonoses da Fundação Municipal de Saúde, com o qual mantemos parceria em extensão e pesquisa junto ao Projeto “Ações Integradas de Prevenção e Controle da Esporotricose”. Agradecemos à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Clínica e Reprodução Animal) e ao Instituto Biomédico da UFF. Por fim, a todos os órgãos de fomento: À CAPES pela concessão da bolsa, sem a qual o trabalho seria inviável.

À PROEXT/MEC/UFF pelo fomento destinado à assistência clínico-laboratorial dos animais aqui incluídos, na vertente extensionista do LMMI-UFF.

À FAPERJ pelo financiamento do projeto. Ao CNPq pela concessão da PQ-CNPq e da bolsa PIBIC que apoiou esse trabalho.

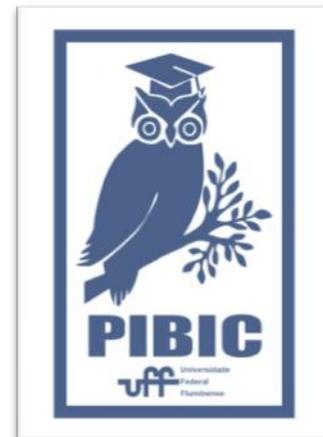


Figure 1: Logo PIBIC



**Grande área do conhecimento:** Ciências Agrárias

**Título do Projeto** AVALIAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRONIZADOS IMPLANTADOS NA PRODUÇÃO E NA MANIPULAÇÃO DE FÓRMULAS LÁCTEAS E DIETAS ENTERAIS INDUSTRIALIZADAS, DO SETOR DE LACTÁRIO/ENTERAL

**Autores:** Thays Souza Marinho<sup>1</sup>; Robson Maia Franco<sup>2</sup>, Maria das Graças Gomes de Azevedo Medeiros<sup>1</sup>; Maria Carmela Kasnowski

Holanda Duarte<sup>2</sup>; Nathalia Guimaraes Araujo Candela<sup>1</sup>; Fernanda Silveira dos Anjos Baimha<sup>2</sup>.

**Departamento/Unidade/Laboratório :** Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Veterinária<sup>2</sup>. Departamento de Nutrição Social da Faculdade de Nutrição EJF<sup>1</sup>. Laboratório de Controle Microbiológico de Alimentos de Origem Animal.

**INTRODUÇÃO:** As fórmulas infantis à base de leite ou soja, destinadas à alimentação de lactentes e crianças saudáveis ou enfermas, têm sido implicadas nas etiologias das infecções de origem hospitalar, em função da contaminação que pode estar relacionada ao ambiente inadequado, assim como processos não validados e controlados ou mesmo por falhas nas técnicas higiênicas sanitárias durante manipulação. O trabalho teve por objetivo analisar os procedimentos operacionais padronizados na produção e manipulação de fórmulas lácteas, no setor de Lactário/Enteral de um Hospital Universitário, com base nas análises microbiológicas realizadas. Foram realizadas a pesquisa observacional das ações e atitudes dos manipuladores ao longo da cadeia de produção dos alimentos e a pesquisa microbiológica dos manipuladores (mãos, luvas, jaleco descartável de manga longa, máscara, touca, região naso e orofaríngea) e utensílios (reservatórios para as fórmulas infantis) e ambiente. As bactérias pesquisadas foram *Staphylococcus* coagulase positiva, Número Mais Provável (NMP) de *Enterococcus* spp., pesquisa de *Salmonella* sp., NMP de Coliformes totais, NMP de *Escherichia coli* e pesquisa de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM), para o manipuladores. Nos utensílios pesquisou-se a presença de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas e fungos. No ambiente se analisou a presença de fungos.

#### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

A pesquisa observacional, das ações e atitudes, ao longo da cadeia produtiva e as análises microbiológicas foram realizadas no período de novembro de 2017 a julho de 2018. O plano

amostral para as análises microbiológicas foi de 06 funcionários, todos que atuam no setor do lactário/enteral. Os utensílios analisados foram os utilizados para a distribuição das dietas aos pacientes da pediatria e na UTI neonatal e a qualidade do ar analisado foi o do setor de preparo das dietas. Em relação a pesquisa observacional, os funcionários foram analisados quanto as atitudes e comportamentos, durante o período de trabalho. Para as análises bacteriológicas foram utilizados os padrões recomendados pela “*American Public Health Association*” (APHA) (Andrews et al., 2001) e a Instrução Normativa SDA nº 62 de 26/08/2003 (Brasil, 2003).

Na análise observacional foi possível verificar que os manipuladores 1, 2, 3, 4 e 5 obtiveram o resultado de 100% de conformidade com o POPs em relação a todas as atividades executadas. Entretanto, a manipuladora (6) apresentou dificuldades para se paramentar ao realizar a sequência prescrita pelo POP e na técnica da higiene das mãos. Duas manipuladoras (4 e 6) estavam fortemente gripadas. Esses fatores, que constituem um risco para o processo, refletiram nos resultados das análises microbiológicas.

Os manipuladores 1, 2 e 3 obtiveram resultados satisfatórios para coliformes totais e *E. coli*, todavia, os manipuladores 4, 5 e 6 apresentaram crescimento significativo para enterococcus e coliformes totais. Os resultados encontrados nas análises microbiológicas realizadas nos manipuladores do lactário foram positivos para: *Enterococcus* spp., Coliformes Totais, *E. coli*, Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas e *Staphylococcus* coagulase positiva. Foram realizadas análises em seis

manipuladores, onde quatro albergavam *Staphylococcus* coagulase positiva nas zonas de Naso e Orofaringe. Além disso, toda equipe apresentou contagem em alguma das amostras coletadas. A contagem de *Staphylococcus* Coagulase positiva variou entre  $10^2$  e  $10^4$  UFC/100 cm<sup>2</sup>, valores superiores aos recomendados pelo padrão microbiológico para manipuladores da APHA, Nelio (2001). Para Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas e *Staphylococcus* coagulase positiva, 100% dos manipuladores apresentaram crescimento nas amostras coletadas.

Na contagem de *Enterococcus* spp e coliformes totais, os manipuladores 4, 5 e 6 apresentaram alto grau de contaminação, principalmente nas mãos e nos EPI Para Coliformes Totais, apenas 16% dos manipuladores apresentaram contagem para os EPI (touca e avental). O manipulador 6 obteve resultado positivo para *Escherichia coli* na amostra coletada de sua touca.

As análises dos utensílios de armazenamento das fórmulas e dietas enterais que estavam higienizados (copinho e chucha) ou estéreis (enterofix, copo descart) e armazenados em embalagens individuais com acondicionamento em caixas de plástico no estoque da unidade no estoque, apresentaram crescimento de fungos, bolores e leveduras. O resultado do crescimento de Microrganismos Mesófilos Aeróbios e fungos, bolores e leveduras nas amostras dos utensílios de armazenamento das fórmulas e dietas enterais foi de 71,4% e 85,7% respectivamente das amostras analisadas, visto que estes utensílios que estavam sobre a bancada durante todo o preparo das fórmulas e dietas enterais. Para as amostras dos utensílios de armazenamento das fórmulas e dietas enterais que estavam higienizados (copo Autoclavado, copo tampa vermelha e chucha) ou estéreis (Enterofix) e armazenados em embalagens individuais com acondicionamento em caixas de plástico no estoque da unidade no estoque, o crescimento de fungos, bolores e leveduras foi de 83,3% das amostras analisadas.

As amostras analisadas do ar ambiente indicam alto grau de contaminação do ar ambiente por fungos, bolores e leveduras. Os resultados das amostras apresentaram 100% de crescimento das amostras para fungos, bolores e leveduras. Desta forma, os resultados representam um

risco para a produção de fórmulas e dietas enterais no local.

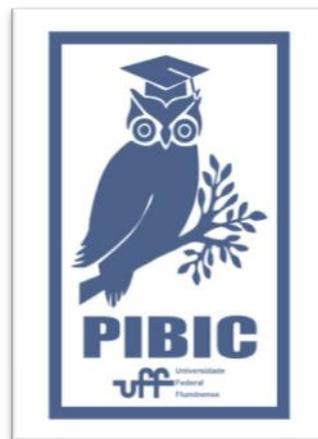
## CONCLUSÕES:

Os Procedimentos Operacionais Padronizados previstos são capazes de assegurar a qualidade higiênico sanitária das fórmulas infantis e enterais. Entretanto, os resultados microbiológicos positivos indicam a necessidade de um programa de capacitação em higiene pessoal periódico para os manipuladores de alimentos. Além disso, os materiais utilizado para armazenamento das fórmulas infantis precisam apresentar técnicas de sanitização e/ou esterilização de forma correta a fim de evitar contaminação cruzada, o que sugere uma das possíveis causas da presença de coliformes totais nas amostras analisadas.

## Agradecimentos:

Agradeço a Universidade Federal Fluminense, à PROPPi e à Capes pela bolsa concedida e a docentes da Faculdade de Nutrição Emília de Jesus Ferreiro, profa. Maria das Graças Gomes de Azevedo Medeiros e ao prof. Robson Maia Franco coordenador do projeto e do Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal as Nutricionistas. A profa. Maria Carmela Holanda. As alunas Nathalia Guimaraes e Fernanda Baimha. As Nutricionistas do HUAP pelo suporte no projeto e as funcionárias do lactário do HUAP.

Figure 1: Logo PIBIC





## CIÊNCIAS AGRÁRIAS

### AVALIAÇÃO DOS TUMORES MAMÁRIOS CANINOS ATRAVÉS DE IMUNOHISTOQUÍMICA PARA HER-2 PARA ANÁLISE DE DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO

Haiany Martins; Larissa Bustamante Nunes; 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 constaram 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).

No presente estudo, foi avaliada por dois observadores a expressão de HER2, correlacionando com o diagnóstico histopatológico. Desta forma, o projeto tem como objetivos: 1) Avaliar a expressão das proteínas receptor do fator

de crescimento epidérmico 2 (HER2) em glândulas mamárias caninas tumorais; 2) Comparar a reprodutibilidade da avaliação imuno-histoquímica realizadas em microscópio óptico por dois observadores.

**Palavras chave:** tumor de mama, cão, imunohistoquímica.

**RESULTADOS E DISCUSSÕES:** Após avaliação histopatológica de 10 amostras de neoplasias malignas e de 10 amostras benignas coradas pela eosina-hematoxilina, 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 imunohistoquímica usando os anticorpos de expressão de HER2 o qual gerou resultados dispostos nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Observador 1 à esquerda; observador 2 à direita.. Relação da classificação histológica e imunomarcagem com o anticorpo anti-HER2 e interpretação segundo o Herceptest e ASCO/CAP. Niterói, 2017-2018.

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

No Herceptest, 70% dos tumores benignos avaliados pelo primeiro observador foram positivos, ao passo que no ASCO/CAP, 30% foram positivos. No Herceptest, 75% dos tumores mistos benignos

foram positivos e 25% foram negativos. Já no ASCO/CAP, nenhum foi positivo, apresentando-se inconclusivos ou negativos. Os casos de adenoma simples foram positivos em ambos os testes. Dois casos com o diagnóstico de adenoma complexo foram negativos e um caso apresentou imunexpressão marcada, sendo positivo em ambos os testes.

De acordo com o segundo observador, no Herceptest, 80% dos tumores benignos avaliados foram positivos, ao passo que no ASCO/CAP, 50% foram positivos. No Herceptest, 100% dos tumores mistos benignos foram positivos. Já no ASCO/CAP, 25% apresentou-se positivo, sendo os demais 75% inconclusivos. Os casos de adenoma simples foram positivos em ambos os testes. Dois casos com o diagnóstico de adenoma complexo foram negativos e um caso apresentou-se positivo em ambos os testes.

Tabela 2: Observador 1 à esquerda; observador 2 à direita. Relação da classificação histológica e imunomarcagem de tumores malignos com o anticorpo anti-HER2 e interpretação segundo o Herceptest e ASCO/CAP. Niterói, 2017-2018.

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

De acordo com o primeiro observador, no Herceptest, 70% dos tumores malignos avaliados foram positivos, ao passo que no ASCO/CAP, 30% foram positivos. O carcinoma em tumor misto foi o tipo mais frequente no presente estudo, sendo que 66,6% e 33,33% deles foram classificados com positivos no Herceptest e ASCO/CAP, respectivamente. Os casos de carcinoma complexo e carcinoma anaplásico mostraram-se positivos na interpretação do Herceptest e inconclusivos no ASCO/CAP. O carcinoma de células fusiformes foi negativo em ambos os testes, ao passo que o carcinossarcoma foi positivo em ambos os testes.

Na segunda observação realizada, no Herceptest, 70% dos tumores malignos avaliados foram

positivos, enquanto foram 40% positivos no ASCO/CAP. A proporção de positivos para o carcinoma em tumor misto foi 66,6% e 50% no Herceptest e ASCO/CAP, respectivamente. Novamente, os casos de carcinoma complexo e carcinoma anaplásico mostraram-se positivos na interpretação do Herceptest e inconclusivos no ASCO/CAP, bem como o carcinoma de células fusiformes foi negativo em ambos os testes, enquanto o carcinossarcoma foi positivo em ambos os testes.

Em relação às duas análises realizadas pelos observadores em questão, houve 90% de concordância quanto às amostras malignas, enquanto, na análise das amostras benignas, a harmonia entre os resultados apresentados foi de 70%; em relação à totalidade, a concordância total foi de 80%.

Conforme descreve NUNES et al (2007), o emprego dessa escala do Herceptest e ASCO/CAP 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+).

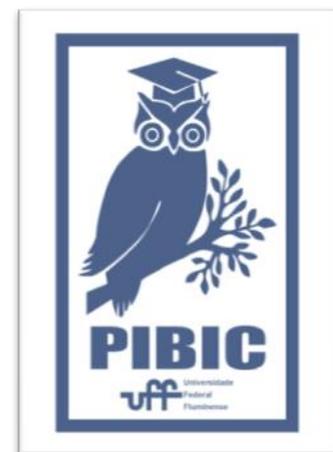
**CONCLUSÕES:** O tipo tumoral maligno mais frequente no presente estudo é o carcinoma em tumor misto e o tipo tumoral benigno é o tumor misto benigno.

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. As divergências nas avaliações foram esperadas e são frequentemente descritas em métodos de estudo que empreguem avaliações utilizando mais de um observador e que realizem uma análise estatística posterior das concordâncias e divergências interobservador, conforme consta nas citações apresentadas. O grau de concordância geral obtido foi de 80%, o que é satisfatório especialmente quando comparado aos estudos semelhantes conduzidos e revela utilidade da aplicação do teste em questão.

#### 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 capacidade da preservação de filés de pescado adicionados de hidrolisados proteicos**

**BASSIL, P. E.; MESQUITA, E. F. M.; KELLER, L. A. M.; ARONOVICH, M.**

**Departamento de Tecnologia de Alimentos / Faculdade de Veterinária  
UFF / Laboratório de Pescado e Sanidade de Aquáticos**

### **INTRODUÇÃO:**

O pescado é extremamente perecível devido às características intrínsecas de sua carne (características físico-químicas do peixe) e a fatores extrínsecos (manipulação, manejo de abate e conservação) (OETTERER, 1998), sendo que a deterioração envolve a atividade enzimática, a rancificação de gorduras e a ação de microorganismos presentes em sua superfície, brânquias e trato intestinal (LEITÃO, 1994).

A tecnologia de pescado busca por métodos de conservação para preservar as características nutricionais e sensoriais dos mesmo. Um dos métodos de conservação alternativo é a adição de hidrolisados proteicos que buscam prevenir a oxidação e a perda de qualidade nos alimentos, sendo uma alternativa pouco onerosa e benéfica. Tendo em vista essas características, o presente projeto pretendeu avaliar a capacidade e o desempenho antioxidativo de hidrolisados proteicos de diferentes origens adicionados a filés de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), a fim de estabelecer um produto com a menor perda de qualidade nutricional, higiênica e sensorial.

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

O pescado foi adicionado de inulina, hidrolisado proteico de casca de couro e metionina em duas concentrações: 1:1 e 1:10, além de grupos controle, e assim foram avaliados os parâmetros físico-químicos de cada um.

Houve uma redução de pH em todos os grupos controle dos hidrolisados adicionados, sendo assim, valores de pH encontrados neste estudo, podem estar associados a particularidades da espécie.

No grupo 1:1 o pH do peixe também abaixou com a adição de inulina e hidrolisado proteico, porém no tempo 24 horas da metionina o pH se manteve até as 96 horas.

No grupo 1:10 o pH do peixe também abaixou com a adição de inulina e hidrolisado proteico, porém, assim como no grupo 1:1, no tempo 24 horas da metionina o pH se manteve até as 96 horas, podendo ter correlação com o hidrolisado adicionado, e como citado anteriormente, com particularidades da espécie estudada.

O potencial Redox de todos os grupos mantiveram-se semelhantes, podendo indicar que todos os hidrolisados adicionados não

interferiram no potencial de oxirredução do peixe.

Ao comparar a ação do hidrolisado proteico com os outros produtos, é possível afirmar que os valores de N-BVT se mantiveram mais constantes no grupos 1:1 e 1:10, sendo, aparentemente o grupo 1:1 mais eficiente, enquanto que nos outros produtos os valores de N-BVT foram crescentes, sendo semelhantes com os grupos controle.

Embora, aparentemente, não tenham tido mudanças significativas com a adição dos produtos, todos os valores encontrados estavam dentro do permitido pela legislação.

Os grupos controle demonstraram queda nos valores de lipídeos totais, indicando processo de rancificação. Além disso, não houve diferenças perceptíveis entre o grupo controle e o grupo 1:1 da inulina, porém no 1:10 da inulina houve diferença perceptível, podendo indicar uma ação antioxidante.

Os grupos 1:1 e 1:10 do hidrolisado proteico não demonstraram eficácia em comparação com o grupo controle, podendo indicar falha na ação antioxidante.

Os grupos 1:1 e 1:10 da metionina demonstraram ter uma possível ação antioxidante a partir do tempo 24 horas, mantendo-se constante até o tempo 96 horas, quando comparado ao grupo controle da metionina.

## CONCLUSÕES:

Diante da pesquisa realizada, ao comparar os resultados, entre os três produtos aplicados no peixe o que demonstrou ter potencial antioxidante

foi a metionina nas concentrações 1:1 e 1:10, sendo ambas muito semelhantes no seu comportamento, pela manutenção do pH e dos lipídeos totais, porém nenhuma das concentrações demonstraram retardar a deterioração, pois a produção de N-BVT se manteve ascendente

## Agradecimentos:

Ao CNPq pela oportunidade e financiamento do projeto.

A PESAGRO-RIO por ter disponibilizado o laboratório para realizar as análises físico-químicas.

A professora doutora Eliana, de Fátima Marques de Mesquita pela orientação no projeto presente.

Ao professor doutor Luiz Antônio Moura Keller pela supervisão e orientação no laboratório do CEPQA/PESAGRO-RIO.

Ao pesquisador Marcos Aronovich pela orientação no laboratório do CEPQA/PESAGRO-RIO.

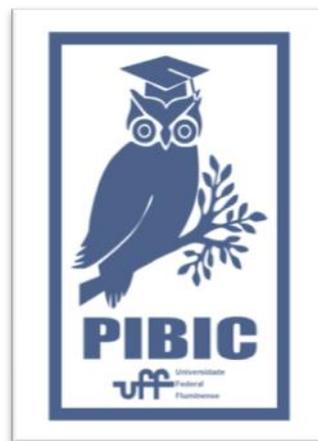


Figura 2: Logo PIBIC



**Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias**

**Título do Projeto:** Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), orégano (*Origanum vulgare*) e manjerição (*Ocimum basilicum*) sobre estirpes de *Escherichia coli*

**Autores: Isabella Thomaz da Silva, Maria Carmela Kasnowski**

**Holanda Duarte, Marco Antonio Sloboda Cortez**

**Departamento de Tecnologia dos Alimentos/Faculdade de Veterinária/Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Leite e Derivados**

## **INTRODUÇÃO:**

A *Escherichia coli* é uma bactéria pertencente a microbiota comensal do intestino da maior parte dos animais e seres humanos, considerada um microrganismo indicador de condições higiênico sanitárias, tendo algumas estirpes extremamente patogênicas. O Queijo Minas Frescal é uma matriz alimentícia vista como excelente substrato para o desenvolvimento de microrganismos contaminantes deteriorantes e/ou patogênicos. Sendo assim, com esse trabalho objetivou-se testar o efeito antagonista dos óleos essenciais sobre a *E. coli* e padronizar a elaboração de queijo Minas Frescal com adição destes óleos.

Foram utilizados três óleos essenciais: alecrim (*Rosmarinus officinalis*), orégano (*Origanum vulgare*) e manjerição (*Ocimum basilicum*). As técnicas adotadas foram difusão em disco e difusão em poços, sendo a última a técnica de preferência nesse trabalho.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Pela técnica de difusão em poços, a CMI (concentração mínima inibitória) obtida para o orégano sobre a *E. coli* foi de 0,25%, 4% para o alecrim e 4% para o manjerição. As maiores inibições foram obtidas na concentração de 16% com os óleos de orégano e manjerição e o alecrim não formou halo nessa concentração. Dentre os três óleos essenciais utilizados o que melhor apresentou uma atividade antagonista a estirpe de *Escherichia coli* utilizada foi o orégano, pois apresentou halo em todas as placas e concentrações, em seguida o manjerição, pois também apresentou formação de halo em todas as concentrações, porém halos menores do que o orégano e o alecrim não apresentou formação de halo em todas as concentrações.

Em virtude da alta concentração de óleo essencial necessária para acarretar em um efeito antagonista, os queijos elaborados apresentaram-se inviáveis dentro do processo de produção, pois as alterações do aroma e sabor foram demasiadamente intensas.

## **CONCLUSÕES:**

O óleo que melhor exerceu o papel de antagonismo “in vitro” foi o orégano, porém não se mostrou de aplicabilidade prática em virtude da alteração sensorial marcante do produto

Sendo assim, faz-se necessário mais estudos, procurando concentrações intermediárias ou até mesmo outros óleos essenciais que combinem com o produto escolhido em busca da inibição da bactéria *E. coli* que é de grande importância para a saúde pública.

### **Agradecimentos:**

Agradeço aos Professores Marco Antonio Sloboda Cortez e Maria Carmela Kasnowski Holanda Duarte por terem acreditado em mim e me orientado durante esse um ano de iniciação científica onde tive a oportunidade de crescer e aprender um pouco mais do assunto em questão. Também agradeço ao CNPq por ter aprovado o projeto, me dando a oportunidade de desenvolver este trabalho, juntamente com a Faculdade de Veterinária e a Universidade Federal Fluminense a qual pertencem os laboratórios onde estive atuando durante este período.

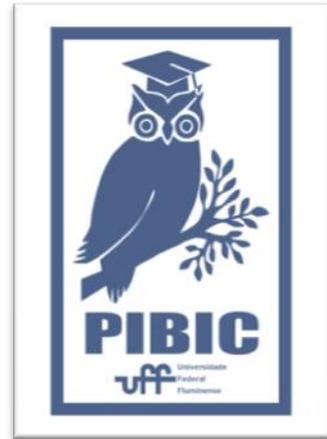


Figure 1: Logo PIBIC



## **Ciências Agrárias**

### **Avaliação da Expressão de Marcadores Biológicos em Neoplasias Mamárias Malignas de Gatas.**

**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 da raça siamês, 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.

A imuno-histoquímica é um método muito utilizado para avaliar a taxa de proliferação e de morte celular em neoplasias, visando obter um diagnóstico e prognóstico, principalmente na ausência de características morfológicas apropriadas. Um dos genes supressores tumorais mais estudados é o p53, conhecido como Guardiã do Genoma. Os níveis elevados de p53 são responsáveis por ativar mecanismos de supressão de tumores, como senescência ou apoptose, impedindo a proliferação descontrolada das células.

Outro marcador biológico de grande importância para o câncer de mama é o receptor do fator de crescimento epidérmico (HER-2), que é um oncogene responsável por codificar uma glicoproteína transmembrana. Nos cânceres de

mama invasivos em humanos esse oncogene está amplificado em 20-30% dos casos. Tais receptores possuem a capacidade de aumentar o potencial de proliferação celular, a angiogênese e a resistência a apoptose, além de prejudicar a adesão célula-célula.

Outro marcador utilizado em reações de imuno-histoquímica é o PCNA (antígeno nuclear de proliferação celular), pois avalia a atividade do ciclo celular.

Este trabalho teve como objetivo fazer classificar nódulos mamários felinos de acordo com as determinações da Organização Mundial da Saúde (OMS) para o câncer de mama humano, visto que a gata é um excelente modelo de estudo. Assim como também visou fazer uma avaliação da expressão do p53, do PCNA e do HER-2, para avaliar o grau de malignidade tumoral, permitindo um prognóstico mais confiável e um tratamento mais adequado.

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Foram coletadas 30 amostras através da mastectomia de 30 gatas que apresentavam nódulos mamários. Das 30 gatas, foram encontradas as seguintes proporções de raças: 1 british shorthair, 1 persa, 3 siamês e 25 sem raça definida (SRD). A idade média encontrada foi de 10,16 anos e os animais não apresentaram alterações nos exames laboratoriais e de imagem pré-operatórios.

Dentre as gatas do estudo, duas foram submetidas à quimioterapia com doxorubicina e quatro à quimioterapia com mitoxantrona.

Das 30 gatas, 7 apresentaram recidiva tumoral, 1 animal veio a óbito sete dias após a cirurgia por causa não determinada, 6 vieram a óbito por outras causas e 4 foram eutanasiados.

Com base nos dados obtidos dos registros, foram calculadas as médias do tempo de sobrevida e do tempo livre da doença. A sobrevida foi de 542,8 e o tempo livre da doença foi de 536,7.

Os 30 nódulos mamários foram analisados e diagnosticados como adenocarcinoma mamário, tendo sido classificados de acordo com as determinações da Organização Mundial da Saúde (OMS) para o câncer de mama humano, visto que a gata é um excelente modelo de estudo. Quanto ao tipo histológico, das 30 amostras, 47% foram de carcinoma tipo misto invasivo, 14% de carcinoma ductal invasivo STE, 13% de carcinoma papilar invasivo, 7% de carcinoma papilar intraductal, 7% de carcinoma cribiforme, 3% de carcinoma tubular, 3% de carcinoma mucinoso, 3% de carcinoma micropapilar invasivo e 3% de adenomioepitelioma com carcinoma.

Além disso, foi avaliada a presença de formação tubular, invasão local dos tumores, anisocitose citoplasmática, alterações a nível nuclear como bi ou multinucleação e formato, nucléolo evidente ou não, macro ou múltiplo, presença de necrose, úlcera, tipos de mitose e comprometimento de linfonodo sentinela.

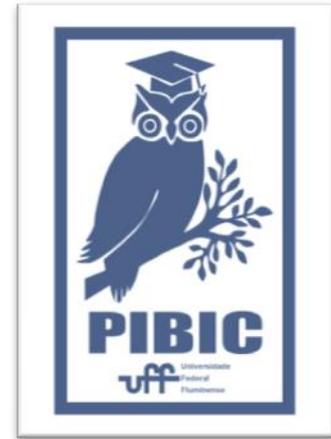
Quanto à análise imuno-histoquímica foram processadas as amostras com os anticorpos anti-PCNA e anti-HER-2, mostrando uma marcação evidente e importante. A imunomarcação com o antígeno anti-PCNA e com o antígeno anti-HER-2 nas diferentes neoplasias mamárias felinas contribuiu para a avaliação do grau de proliferação celular das mesmas.

## **CONCLUSÕES:**

Os achados indicam alta prevalência de neoplasias mamárias malignas, tendo prognóstico reservado em vista do tempo de sobrevida e do tempo livre da doença. A análise imuno-histoquímica visa contribuir para nos resultados para avaliação da malignidade das neoplasias e do prognóstico.

## **Agradecimentos:**

Agradeço ao CNPq, Proppi-UFF; FAPERJ, à minha orientadora, à Vanessa Araujo de Moraes (Mestranda), à Simone Carvalho dos Santos Cunha (Pós-doutoranda) e à professora Kássia Valéria Gomes Coelho da Silva por toda a ajuda durante o projeto.





**Grande área do conhecimento:** Ciências Agrárias

**Título do Projeto:** Prevalência de *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae* nas fases de Recria e Produção de Galinhas em Criações do tipo Industrial e Caipira

**Autores:** Mariane Meloni da Silva<sup>1</sup>, Rosiane Lima Silva<sup>1</sup>, Arthur de Almeida Figueira<sup>1</sup>, Leandro dos Santos Machado<sup>1</sup>, Nathalie Costa da Cunha<sup>1</sup>, Nilce Maria Soares<sup>2</sup>, Elmiro Rosendo Nascimento<sup>1</sup>, Virgínia Léo de Almeida Pereira<sup>1</sup>.

**Departamento/Unidade/Laboratório:** MSV/Faculdade de Veterinária<sup>1</sup>; APTA/Instituto Biológico de Bastos, SP<sup>2</sup>.

### INTRODUÇÃO:

O setor avícola vem ganhando cada vez mais importância no agronegócio brasileiro e a preocupação com sanidade acompanha esse crescimento. Nesse contexto, a micoplasmose aviária destaca-se como uma das doenças de maior impacto econômico em todos os níveis da atividade avícola. As perdas econômicas atribuídas a essa enfermidade devem-se à queda na produção e qualidade dos ovos, má eclodibilidade (alta mortalidade embrionária), alta taxa de pintos refugos, queda na eficiência alimentar, altas taxas de mortalidade e condenação de carcaças, além do alto custo no uso de antibióticos para o tratamento dos lotes acometidos (NASCIMENTO et al., 2009), causando prejuízos diretos à Indústria Avícola e podendo ser considerada um fator de embargo à comercialização de produtos de origem avícola ao exterior. Por todos esses aspectos, as micoplasmoses aviárias estão na lista de doenças de notificação obrigatória da OIE (Organização Mundial de Saúde Animal) e entre as enfermidades com prioridade na abordagem no Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) 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 de produção e estão presentes nos plantéis brasileiros, com alta prevalência de MS nas criações de poedeiras comerciais (TEIXEIRA et al., 2015). O objetivo deste estudo foi identificar a prevalência de *Mycoplasma gallisepticum* e *M. synoviae* em galinhas nas fases de recria e de produção em criações avícolas dos tipos industrial e caipira. Foram coletadas 80 amostras em três granjas de poedeiras do tipo industrial (A, B, C) e 40 amostras em uma granja de poedeiras do tipo caipira (D) para detecção de *Mycoplasma*

*gallisepticum* (MG) e *Mycoplasma synoviae* (MS) por PCR. As amostras foram obtidas a partir de 10 suabes de traqueia de dois lotes das granjas A e B, sendo um lote na fase de recria e o outro na fase de produção, e de quatro lotes das granjas C e D, sendo três na fase de recria e um na fase de produção.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Na granja A, das 20 amostras, 10% (2/20) das aves foram positivas para MG e 75% (15/20) positivas para MS. Nas granjas B, C e D nenhuma das amostras analisadas foi positiva para MG. Para MS, 95% (19/20) foram positivas na granja B, 37,5% (15/40) na granja C e 5% (2/40) na granja D (Tabela 1). A porcentagem de infecção por MS foi significativamente maior do que a de MG em poedeiras comerciais (Teste-G de Independência,  $p < 0,05$ ). A porcentagem de MS também foi significativamente maior na criação do tipo industrial, tanto na recria quanto na produção, em relação à criação do tipo caipira (Teste-G de Independência,  $p < 0,05$ ). Quando comparadas as fases de recria e de produção, a infecção por MS foi maior na fase de produção do que na recria na criação industrial. A mesma situação não foi observada quando analisada a criação do tipo caipira, em que não foi detectado MS na fase de produção, sugerindo que houve tratamento antimicrobiano aplicado às aves.

O estudo demonstrou que todas as granjas de poedeiras comerciais estudadas foram positivas para MS, o que corrobora os relatos de alta prevalência do agente nas granjas de postura comercial da região de Bastos, SP. A baixa prevalência de micoplasmas na granja de poedeiras caipiras pode ter sido influenciada pelo uso de antimicrobianos, como enrofloxacina, no tratamento das aves, uma vez que a positividade para MS à PCR foi de 5%.

## CONCLUSÕES:

Estudos sobre a prevalência de micoplasmas e a identificação das espécies envolvidas são importantes para a elaboração de programas de controle e verificação da eficácia dos programas vacinais e de controle sanitário. Ficou comprovada a alta prevalência de MS nas

criações de poedeiras comerciais industriais. As criações caipiras carecem de estudo com maior número de amostras para mais confiabilidade nos resultados. No Brasil, tais estudos são escassos, o que torna projetos como este ainda mais relevantes.

Tabela 1. Frequência de galinhas positivas à PCR para *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e *M. synoviae* (MS) nas fases de recria e de produção em criações do tipo industrial e caipira

TIPO DE PRODUÇÃO	GRANJA	FASES DE CRIAÇÃO				TOTAL	
		*RECRIA		*PRODUÇÃO		*MG	*MS
		MG	MS	MG	MS		
INDUSTRIAL	A	1/10 (10%)	6/10 (60%)	1/10 (10%)	9/10 (90%)	2/20 (10%)	15/20 (75%)
	B	0/10 (0%)	9/10 (90%)	0/10 (0%)	10/10 (100%)	0/20 (0%)	19/20 (95%)
	C	0/30 (0%)	10/30 (33,3%)	0/10 (0%)	5/10 (50%)	0/40 (0%)	15/40 (37,5%)
*TOTAL		1/50 (2%)	25/50 (50%)	1/30 (3,3%)	24/30 (80%)	2/80 (2,5%)	49/80 (61,2%)
CAIPIRA	D	0/30 (0%)	2/30 (6,6%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/40 (0%)	2/40 (5%)
*TOTAL		0/30 (0%)	2/30 (6,6%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/40 (0%)	2/40 (5%)
TOTAL GERAL		1/80 (1,2%)	27/80 (33,7%)	1/40 (2,5%)	24/40 (60%)	2/120 (1,6%)	51/120 (42,5%)

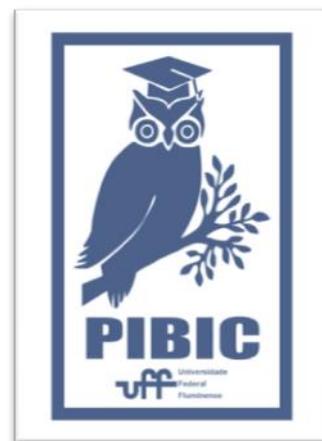
\*Teste-G de Independência,  $p < 0,05$

## Agradecimentos:

À PROPPI/UFF pelo apoio financeiro e à APTA/Bastos, SP pelo auxílio na obtenção das amostras.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- NASCIMENTO, E.R.; PEREIRA, V.L.A. Micoplasmoses. In: BERCHIERI JR., A.; SILVA, E.N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M.A.F. *Doenças das Aves*. 2.ed. Campinas: FACTA, 2009. 1104p. p.483-495.
- TEIXEIRA V.C.M.; BAPTISTA D.Q.; CARLOS F.C.; MENEZES W.R.; JOSÉ D.S.; BARRETO M.L.; ABREU D.L.C.; PEREIRA V.L.A.; NASCIMENTO E.R. Situação epidemiológica da micoplasmose aviária no Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 2015. 37(4):379-385





## Ciências Agrárias

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

Sarah Marques Mendes, Vanessa Araujo de Moraes, Maria de Lourdes Gonçalves Ferreira, Ana Maria Reis Ferreira, Marcela Freire Vallim de Mello

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

**INTRODUÇÃO:** O sistema reprodutor é de grande importância para o organismo, de forma que desequilíbrios em seu funcionamento podem afetar diretamente outros tecidos e órgãos do corpo, por meio de ação hormonal. Em cadelas, o relato de alterações ovarianas é incomum e tal fato pode ser atribuído à castração precoce dos cães e à ausência de sinais clínicos. Dentre as afecções de ovário mais comuns nos animais estão os cistos e as neoplasias. Estas lesões podem determinar afecções uterinas e mamárias, de acordo com o tipo de célula ovariana alterada e sua produção hormonal. Este projeto teve como objetivo caracterizar e descrever os diferentes tipos de lesões ovarianas de cadelas, por meio de análise histopatológica, identificando lesões de caráter cístico, hiperplásico e neoplásico, com origem em diversas estruturas corticais e medulares e associando-as com possíveis lesões em útero e glândula mamária, de natureza hiperplásica e neoplásica (Johnston et al., 2001; McEntee, 2002).

**RESULTADOS E DISCUSSÕES:** Foi feita a análise histopatológica de seções de ovários de 33 cadelas de 6 a 15 anos e de raças variadas, coradas pela técnica de rotina de Hematoxilina-Eosina (HE). Em relação às alterações histopatológicas ovarianas observadas, os cistos foram predominantes, estando presentes em 29/33 (87,9%) casos do estudo. Os cistos de estruturas epiteliais subsuperficiais (Figura 1) foram os mais frequentes, sendo observados em 16/33 (48,5%) casos, os cistos de rede ovariana (alguns casos com hiperplasia associada) em 8/33 (24,2%) casos, os cistos de ductos e túbulos mesonéfricos em 6/33 (18,2%), os cistos foliculares em 4/33 (12,1%), os cistos de inclusão epitelial em 2/33 (6,1%), o corpo lúteo

cístico em 1/33 (3%) e o cisto paraovariano em 1/33 (3%).

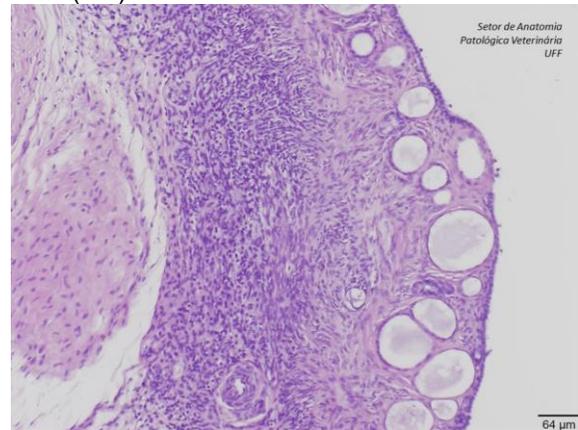


Figura 1 - Fotomicrografia de ovário de cadela. Cistos de estruturas epiteliais subsuperficiais no córtex. HE, Barra = 64µm.

A segunda alteração ovariana mais observada foi a hiperplasia da rede ovariana em 13 (39,4%) dos 33 casos (Figura 2) e a terceira alteração mais observada foi o tumor de células da granulosa em 12 (36,4%) dos 33 casos.

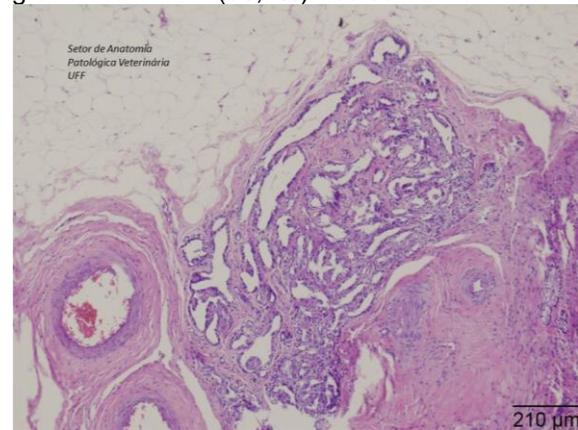


Figura 2 – Fotomicrografia de ovário de cadela. Hiperplasia da rede ovariana na região medular. HE, Barra = 210µm.

No presente estudo, 10 dos 12 casos com tumores de células da granulosa foram achados unilaterais e em apenas um caso se observou sinais evidentes de malignidade, como nucléolos evidentes, mitoses típicas e atípicas frequentes e contagem mitótica de 9 mitoses em 10 campos de 40x. Nesse estudo, verificou-se também 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 (Figura 3).

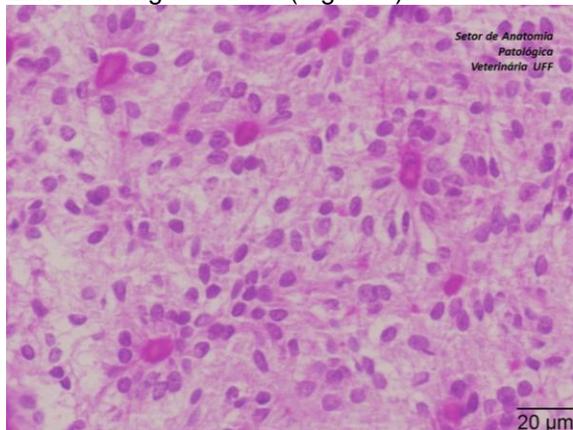


Figura 3 – Fotomicrografia de ovário de cadela. Corpúsculos de *Call-Exner*. formação de rosetas em tumor de células da granulosa. HE, Barra = 20µm.

Em cadelas e gatas, os tumores das células da granulosa estão frequentemente associados com sinais clínicos de hiperestrogenismo (Jones et al., 2000). No presente estudo, os tumores de células da granulosa tiveram uma frequência considerável (36,4%, 12/33 dos casos). Porém, esta alteração não foi o fator primário de encaminhamento desses animais ao atendimento veterinário, sendo apenas um achado de pesquisa nas peças oriundas da castração. Uma explicação para esse fato é que geralmente animais com pequenas formações neoplásicas focais podem não apresentar sinais clínicos evidentes para que sejam encaminhados para exames específicos. Além disso, por não ocorrer o diagnóstico histopatológico dessas alterações, não é feita uma contabilização nos relatos de literatura. As alterações histopatológicas em útero das 33 cadelas compreenderam adenomiose, cistos miometriais, leiomioma, cisto parauterino, hemorragia endometrial, hemometra, hiperplasia endometrial cística ou não, hidrometra, mucometra e piometra. Em relação ao útero, o tumor de células da granulosa ocorreu em conjunto com hiperplasia endometrial cística ou não em 11 casos e com piometra em 2 casos.

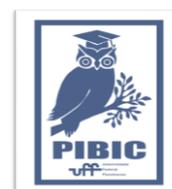
Em sua maioria, as cadelas que tiveram os ovários avaliados neste estudo foram submetidas à cirurgia de ovário-histerectomia em conjunto com mastectomia ou nodulectomia em mama, no HUVET-UFF em decorrência de queixa primária de tumoração mamária. Em 11 cadelas que apresentavam tumor de células da granulosa em ovário e neoplasia mamária, a associação com o tipo histológico de neoplasia mamária foi a seguinte: 4/11 (36,4%) cadelas tinham diagnóstico de carcinoma em tumor misto grau histológico I, 2/11 (18,2%) tinham carcinoma em tumor misto de mama grau histológico II, 1/11 (9,1%) tinha carcinoma papilar grau histológico II, 1/11 (9,1%) tinha carcinoma sólido grau histológico I, 1/11 (9,1%) tinha carcinoma sólido grau histológico II e 2/11 (18,2%) tinham carcinosarcoma.

**CONCLUSÕES:** A média de idade das cadelas com alterações histopatológicas ovarianas correspondeu a 9,48 anos, sendo o limite inferior de 6 e o superior, de 15 anos de idade. 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 as de caráter cístico. Entre as alterações ovarianas observadas houve maior frequência dos 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, sendo observado em conjunto com hiperplasia de rede ovariana e cistos de estruturas epiteliais subsuperficiais. 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 ocorreu de forma frequente em conjunto com hiperplasia endometrial cística ou não e piometra.

#### Referências bibliográficas:

- JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. Patologia Veterinária. 6 ed. São Paulo: Manole, p. 1169-1220. 2000.  
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.  
McENTEE, K. Reproductive pathology of domestic animals. Academic Press, Inc 1ª ed., 401 p., 1990.

**Agradecimentos:** Ao Setor de Anatomia Patológica Veterinária da UFF pelo acolhimento e por todo aprendizado e principalmente à professora Marcela Freire Vallim de Mello pela oportunidade da pesquisa.





## Ciências Agrárias

### Estudos da formação de complexos coacervados obtidos a partir da lactoferrina e polissacarídeos

Clyselen Stefane Fernandes de Souza e Edwin Elard Garcia-Rojas

Laboratório de Engenharia e Tecnologia de Agroindustrial - LETA/VEA/EEIMVR

## INTRODUÇÃO

As proteínas e os polissacarídeos podem se classificar como biopolímeros e sua interação exerce uma grande influência sobre aspectos macroscópicos do alimento, tais como: fluidez, textura, estabilidade e sensação bucal. A interação entre esses biopolímeros é chamada de complexo coacervado. A aplicação de complexos formados a partir de proteínas e polissacarídeos em sistemas alimentares vem sendo amplamente estudada visando o seu emprego em processo de encapsulação de bioativos, estabilização de emulsões, produção de biofilmes, dentre outros.

Neste trabalho, objetivou-se estudar a formação de complexos coacervados obtidos de lactoferrina com diferentes polissacarídeos.

## METODOLOGIA

### Material

A lactoferrina (lac) desidratada (Bioferrin® 2000) foi obtida a partir da empresa Glanbia Nutricionals (Fitchburg, EUA). Os polissacarídeos (Pol) pectina (Pec), carragena (Car) e carboximetilcelulose (CMC) foram obtidos a partir da empresa Sigma e Aldrich (St. Luis, EUA), cloreto de sódio a partir da empresa Vetec (RJ, Brasil) e água deionizada com condutividade 0,05  $\mu\text{cm}$  (Master P & D, Gehaka, São Paulo, Brasil).

### Preparo do Complexo

A concentração da lac, pec, car e cmc utilizados, foram de 1% m/m. Onze razões de Lac: Pol (1:1, 1:2, 1:4, 1:9, 2:1, 4:1, 9:1, 10:1, 12:1, 16:1, 20:1) foram estudadas.

### Potencial – Zeta ( $\zeta$ )

O Zetasizer (Malvern Instruments, Nano-ZS, (Reino Unido) foi utilizado para determinar o Potencial-  $\zeta$  da Lactoferrina e dos polissacarídeos. A força da interação eletrostática (SEI) entre polieletrólitos com carga oposta podem ser estimados de acordo a seguinte Equação 1 (YUAN et al., 2017):

$$\text{SEI (mV}^2\text{)} = |\text{ZP}_1 \times \text{ZP}_2| \quad (1)$$

onde  $\text{ZP}_1$  e  $\text{ZP}_2$  é o potencial-  $\zeta$  medido de ambos os polímeros em cada pH.

Após a determinação do pH ideal para formação do complexo, uma nova medição de potencial-  $\zeta$  foi realizada, mantendo pH fixo e variando as razões de Lac:(Pec/Car/CMC) (1:1, 1:2, 1:4, 1:9, 2:1, 4:1, 9:1, 10:1, 12:1, 16:1, 20:1) no sistema.

### Análise Turbidimétrica

A transmitância das amostras nas diferentes razões Lac:(Pec/Car/CMC) a pH fixo 5,5, que foi determinado anteriormente pela Equação 1, foi obtida através do aparelho espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S12, Inglaterra), utilizando o comprimento de onda de 400 nm e calibrado com água ultrapura para zero de transmitância.

### Análise termodinâmica por Calorimetria de titulação isotérmica (ITC)

O equipamento utilizado foi utilizado o Nano-ITC (TA Instruments, EUA). Primeiramente preparou-se uma solução de Lac a 0,8 mM e de Pec 0,01 mM; em seguida uma segunda solução foi preparada, a de Lac a 0,18 mM e Car a 0,001 mM; e por fim a terceira e última solução preparada foi Lac a 0,18 mM e



Tabela 1: Parametros termodinâmicos para os diferentes sistemas de Lac:Pol, no pH 5,5 a 25°C.

<b>Lac:Pec</b>				
T(K)	Ka(M <sup>-1</sup> )	n	ΔG (kcal/mol)	
298,15	1,238 x 10 <sup>5</sup>	11,11	-6,94	
<b>Lac:Car</b>				
Etapa	T(K)	Ka(M <sup>-1</sup> )	n	ΔG (kcal/mol)
1	298,15	33,45 x 10 <sup>5</sup>	12,25	-14,87
2	298,15	30,80 x 10 <sup>4</sup>	13,73	-92,48
<b>Lac:CMC</b>				
Etapa	T(K)	Ka(M <sup>-1</sup> )	n	ΔG (kcal/mol)
1	298,15	31,44 x 10 <sup>6</sup>	23,31	-29,66
2	298,15	29,51 x 10 <sup>7</sup>	29,07	-3,94

## CONCLUSÕES:

Foi possível formar complexos entre a proteína e os polissacarídeos, utilizando a força da interação eletrostática (SEI), onde a interação ocorreu devido às cargas opostas. Esses resultados foram comprovados através das análises de transmitância e potencial - ζ, pois foi possível observar a mudança de valores de potenciais ou aumento de turbidez. Os valores negativos de ΔG indicam a natureza espontânea da interação entre os biopolímeros.

## Agradecimentos:

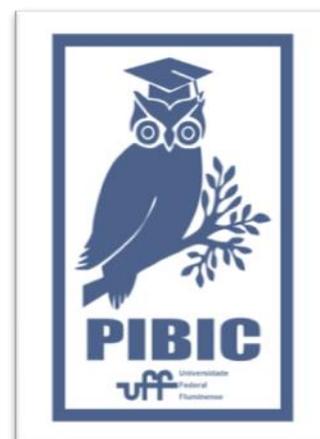
Ao CNPq e FAPERJ pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOU-ABDALLAH, F.; TERPSTRA, T. R. (2012) The thermodynamic and binding properties of the transferrins as studied by isothermal titration calorimetry. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v.1820, n.3, p.318–325.

YUAN, Y., KONG, Z. Y., SUN, Y. E., ZENG, Q. Z., & YANG, X. Q. (2017). Complex coacervation of soy protein with chitosan: Constructing antioxidant microcapsule for algal oil delivery. **LWT-Food Science and Technology**, 75, 171-179.

DE KRUIF, CORNELUS G.; WEINBRECK, FANNY; DE VRIES, RENKO (2004) Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. **Current opinion in colloid & interface science**, v. 9, n. 5, p. 340-349.





**Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias**

**Título do Projeto: Modelagem da inativação de *Staphylococcus* spp. utilizando termossonicação combinada ao ácido peracético em lombo seco-curado Brasileiro**

**Autores: Yago Alves de Aguiar Bernardo; Denes Kaic Alves do Rosário; Yhan da Silva Mutz; Carlos Adam Conte Junior**

**Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Tecnologia de Alimentos / Faculdade de Veterinária / Centro Laboratorial Analítico**

## INTRODUÇÃO:

O lombo brasileiro curado (Socol) a seco é um produto artesanal maturado à temperatura ambiente, sem a adição de conservantes sintéticos ou cultura starter. Devido à baixa atividade de água e alto e/ou moderado teor de NaCl, produtos cárneos curados a seco têm sido considerados como um produto microbiologicamente estável (Menéndez et al., 2018). Entretanto, microrganismos patogênicos halotolerantes podem ser o principal risco à saúde pública devido às características intrínsecas da matriz. *Staphylococcus aureus* é uma bactéria halotolerante encontrada em carnes curadas a seco e ingredientes para sua produção em todo o mundo (Stavropoulou et al., 2018) A intoxicação por *S. aureus* é uma das mais comuns no mundo e as toxinas produzidas por esta bactéria causam hipersalivação, náusea, vômito e cólicas abdominais com ou sem diarreia, com uma taxa de letalidade de 0,03% (Kadariya et al., 2014). Portanto, obviamente, esse patógeno deve ser reduzido de alimentos potencialmente portadores.

A combinação de fatores como: ultrassom, ácido peracético e calor podem apresentar um eficiente controle de microrganismos patogênicos. O conceito de combinação de fatores com objetivo de conservar os alimentos foi desenvolvido por Leistner (1995), e é conhecido que cada fator envolvido no processo de controle microbiano representa uma barreira que pode ser obliterada pelo microrganismo, dificultando sua penetração e multiplicação no alimento. Portanto, o presente estudo teve como objetivo obter um modelo de inativação de *Staphylococcus* spp. presente naturalmente pela aplicação da termossonicação combinada ao ácido peracético em lombo seco-curado Brasileiro (Socol) para avaliar a eficiência da combinação

destas tecnologias no processo descontaminação.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A utilização do ultrassom aliado a altas temperaturas de banho apresenta um efeito sinérgico (Figura 1). A cavitação induzida pelas ondas do ultrassom é responsável, através dos micro jatos, por romper a parede celular e alterar sua permeabilidade (Chandrapala, 2015). Além disso, o colapso das bolhas criadas pela cavitação é capaz de liberar radicais hidroxila livres e calor em menor escala (Kang et al., 2016). Portanto, no presente estudo, esse mecanismo é o responsável por permitir que um mesmo efeito de inativação seja alcançado quando menores temperaturas são aplicadas por uma maior densidade energética de banho de ultrassom.

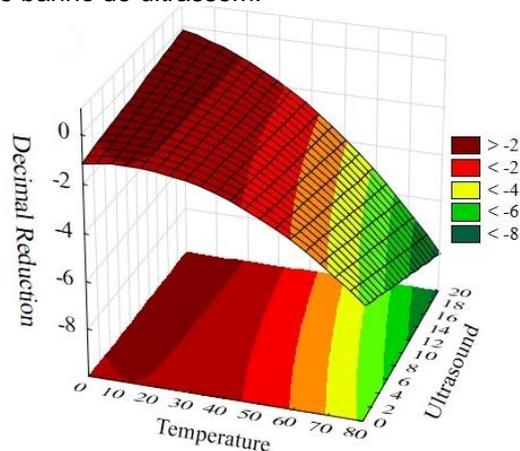


Figura 1: Superfície de resposta da inativação de *Staphylococcus* spp. no socol de acordo com tempo de ultrassom e a temperatura da água de banho.

O ácido peracético se comporta de forma antagônica à alta temperatura de banho (Figura 2). A inativação de *Staphylococcus* spp. ocorrida devido a altas temperaturas, onde a dissociação

do ácido peracético se dá com maior velocidade, supera a inativação do ácido peracético quando observado a baixas temperaturas. É possível então afirmar que o uso combinado destas tecnologias não cria um efeito sinérgico de inativação, e que esta é maior quando as tecnologias são utilizadas isoladamente.

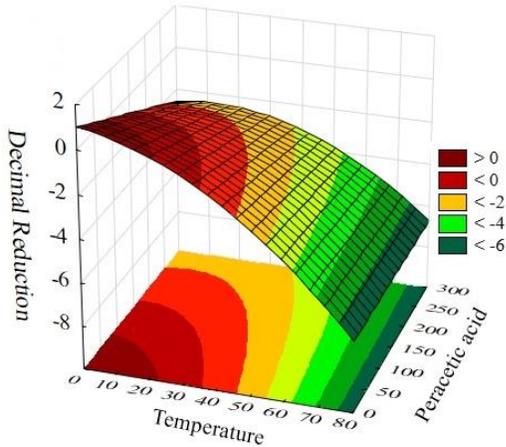


Figura 2: Superfície de resposta da inativação de *Staphylococcus* spp. no socol de acordo com a concentração de ácido peracético e a temperatura da água de banho.

A expressão polinomial quadrática final da análise estatística utilizada é apresentada na Equação (1), onde somente os termos de significância foram incluídos.

$$\text{Log } (N/N_0) = 0.519870163 + 0.0025281815 \cdot T - 0.000925143302 \cdot T^2 + 0.0506288915 \cdot US - 0.0119088687 \cdot AP - 0.00259717523 \cdot T \cdot US + 0.000148447661 \cdot T \cdot AP \quad (1)$$

Onde: Log (N/N<sub>0</sub>) representa a redução logarítmica de *Staphylococcus* spp. (log CFU/g); T é a temperatura da água de banho (°C); t é o tempo de ultrassom (min); e AP representa a concentração de ácido peracético (mg/L).

## CONCLUSÕES:

Tempo de ultrassom, temperatura de banho e concentração de ácido peracético são fatores que influenciam a inativação de *Staphylococcus* spp. no lombo seco curado brasileiro. Este efeito foi demonstrado e validado pelo modelo matemático de inativação gerado. A combinação entre os três fatores cria

condições desfavoráveis ao desenvolvimento dos microrganismos, seja pelo calor, pelo mecanismo de cavitação proposto pelo ultrassom ou pelo estresse oxidativo e redução do pH proporcionado pelo ácido peracético. No mais, a interação entre os fatores e sua intensificação permite otimizar o processo de descontaminação, e possibilita a redução da duração do tratamento para se obter o efeito desejado. O modelo desenvolvido por este estudo pode auxiliar produtores a garantir a segurança na produção do socol de acordo com os regulamentos estabelecidos, respeitando os níveis de *Staphylococcus* spp.

## Agradecimentos:

Os autores gostariam de agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo suporte financeiro.

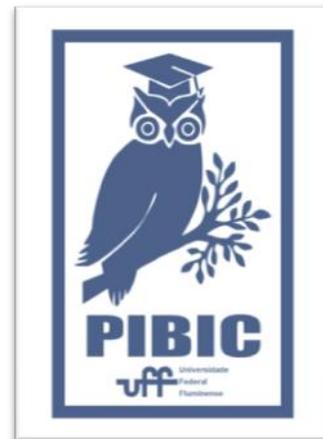


Figure 3: Logo PIBIC



**Grande área do conhecimento:** Ciências Agrárias

**Título do Projeto:** INFLUÊNCIA DO DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS DE COIX LACRYMA-JOBI EXPOSTAS A DOSES DE PROLINA E ÁCIDO Y-AMINO BUTÍRICO

**Autores:** Nathan Pereira da Costa Correa<sup>1</sup>(IC), Rafael Agostinho Ferreira<sup>1</sup>(PG), Rubiana Pereira Borges<sup>1</sup>(PG), Daniela Marques Correia<sup>1</sup>(IC), Ana Carolina Barbosa do Canto<sup>1</sup>(IC), Junior Borella<sup>1</sup> (PQ), Cristina Moll Hüther<sup>1</sup> (PQ), Carlos Rodrigues Pereira<sup>1</sup>(PQ).

**Departamento/Unidade/Laboratório:**

<sup>1</sup>Programa Pós-Graduação em Engenharia de Biosistemas. Universidade Federal Fluminense. Rua Passo da Pátria, 156, bloco D, sala 236, São Domingos, Campus Praia Vermelha, Niterói, RJ, Brasil. CEP: 24210-240. IC (Iniciação Científica); PG (Discente de Pós-Graduação); PQ (Professor Pós-Graduação/Pesquisador). E-mail correspondência: carrod@yaho.com.br

## INTRODUÇÃO:

Uma das espécies vegetais amplamente cultivadas e empregadas na medicina tradicional chinesa é a Lágrima de Nossa-Senhora (*Coix lacryma-jobi* L.), nativa do Sudeste Asiático e pertencente à família Poaceae. Além de sua utilização na área medicinal devido principalmente a sua grande variedade de componentes bioativos em suas sementes (polissacarídeos, proteínas, lipídios, polifenóis, fitoesteróis), é também empregada na produção de alimentos e bebidas alcoólicas (WANG et al., 2012). Seu cultivo ocorre em diversos ambientes, desde margens de florestas a pântanos. Sendo assim, está amplamente distribuída nas zonas tropicais e de clima temperado (CORKE et al., 2016). Assim, tendo em vista a sua importância como espécie de interesse econômico e devido ao fato de seu habitat ser em ambientes úmidos, cabe ressaltar as possíveis respostas que com aplicação desses aminoácidos poderão resultar num provável papel protetor frente a esse estresse, mantendo assim uma possível homeostase metabólica até um retorno as condições normais de disponibilidade hídrica.

Assim, o presente trabalho se propôs a avaliar as respostas metabólicas de plantas de *C. lacryma-jobi* em situação de déficit hídrico via aplicação exógena de prolina e GABA, em estágio vegetativo.

O estudo foi conduzido no Campus Gragoatá da Universidade Federal Fluminense, entre os meses de março a setembro de 2017, no município de Niterói, RJ. A sua condução ocorreu em casa de vegetação pertencente ao programa Fitoterápico Farmácia Viva. As sementes foram germinadas em bandejas de isopor e, após a emergência das plântulas, foram transplantadas para vasos plásticos.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foi realizada a aclimação por um período de 14 dias, de modo que após esse tempo, as plantas foram submetidas aos seus respectivos tratamentos, como: Controle (com irrigação), controle déficit hídrico, aplicação de GABA (com irrigação), aplicação de prolina (com irrigação), aplicação de GABA (sem irrigação) e aplicação de prolina (sem irrigação). Cada vaso continha uma planta e cada tratamento possuía cinco repetições.

Para as análises derivadas do teste JIP, alguns parâmetros foram considerados e estão representados na Figura 1, a seguir, em relação aos períodos analisados. As plantas cultivadas sob o déficit hídrico mesmo na presença dos aminoácidos, tiveram comprometimentos nos seus aparatos fotossintéticos.

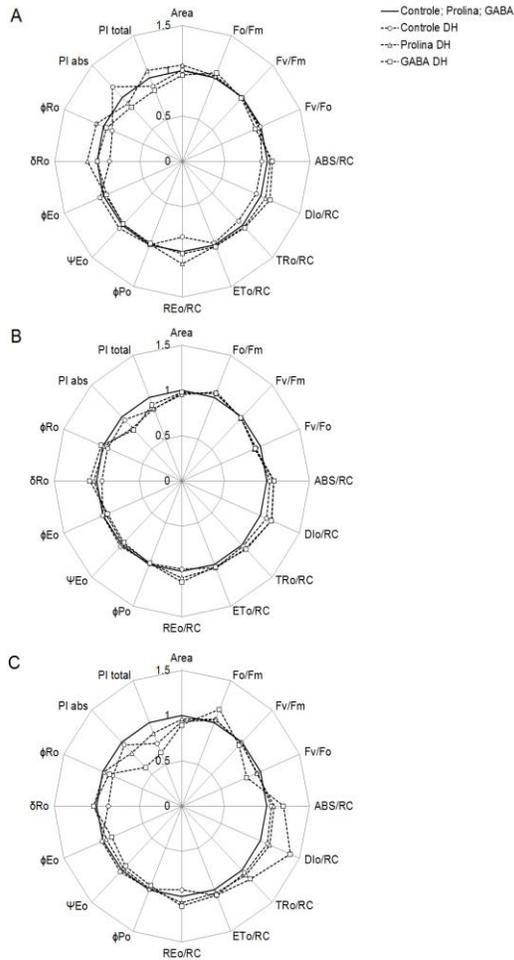


Figura 1 - Parâmetros do Teste JIP, em relação ao respectivo controle, obtidos a partir da fluorescência transiente OJIP da clorofila de plantas de *Coix lachryma-jobi* submetidas a déficit hídrico e dose exógena de prolina e GABA. Controle (—), controle déficit hídrico (-o-), prolina déficit hídrico (-Δ-), e GABA déficit hídrico ( -.-). A-B-C avaliações aos 4,8 e 12 dias, respectivamente.

Deve-se dar destaque à aplicação de prolina, visto que apresentou uma melhor

performance (fotoquimicamente) quando comparada as plantas com déficit hídrico que não sofreram aplicação desses aminoácidos.

O tratamento que recebeu estresse por déficit hídrico com a aplicação de GABA, emitiu maior atividade da enzima catalase, sugerindo uma maior ocorrência de  $H_2O_2$  (dados não mostrados).

No tratamento controle onde não foi realizada a aplicação exógena de prolina, pode ser constatado um maior acúmulo deste aminoácido nos tecidos, sob a condição controle em que houve a aplicação de prolina (dados não mostrados).

## CONCLUSÕES:

As plantas de Lágrima de Nossa-Senhora (*Coix lachryma-jobi* L.), quando expostas a situação em que ocorre o déficit hídrico, a aplicação da prolina deve ser preconizada em relação a aplicação de GABA.

CORKE, H., HUANG, Y., LI, J. S.. Coix: Overview. In C. Wrigley, H. Corke, K. 704 Seetharaman & J. Faubion (Eds), Encyclopedia of Food Grains,. Oxford: 705 Academic Press. p. 184–189, 2016.

WANG, L., SUN, J., YI, Q., WANG, X., & JU, X. Protective effect of polyphenols extract of adlay (*Coix lachryma-jobi* L. var. ma-yuen Stapf) on hypercholesterolemia-induced oxidative stress in rats. *Molecules*, v. 17, p. 8886–8897, 2012.

## Agradecimentos:

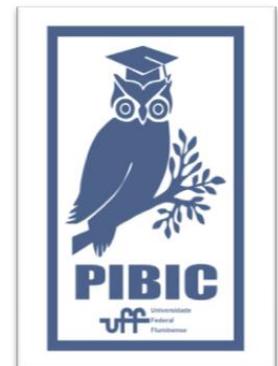


Figure 2: Logo PIBIC



## Ciências Agrárias

### Diversidade genética dos parvovírus circulantes em felinos domésticos no estado do Rio de Janeiro

Leticia Maria Machado (bolsista PIBIC), Cinthya Fonseca Domingues (Mestrado), Rita de Cássia Nasser Cubel Garcia (Orientador)

Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, UFF. Laboratório de Gastrenterites Virais e Parvovírus

#### INTRODUÇÃO:

Os parvovírus que infectam cães e gatos (gênero *Protoparvovirus*, família **Parvoviridae**) são pequenos vírus de genoma DNA de fita simples de 5124 nucleotídeos e capsídeo de simetria icosaédrica constituído de duas proteínas: VP1(82 kDa) e VP2 (67 kDa).

Apesar de serem constituídos 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 Felino (FPV) apresenta uma similaridade genômica de aproximadamente 98% com o Parvovírus Canino (CPV), o qual é considerado uma variante do FPV. FPV e CPV diferem em cerca de 8-10 aminoácidos (aa) na proteína de capsídeo VP2. As mudanças de aa nas posições 80, 93, 103, 297, 300, 305, 323, 426, 555, 564 e 568 de VP2 são importantes para definição do espectro de hospedeiro e habilidade do CPV de replicar em cães.

Desde que emergiu em 1978 como um novo patógeno de cães, novas variantes de CPV (2a/2b/2c) surgiram e substituíram o tipo original (CPV-2) em circulação. Enquanto o CPV-2 não era capaz de infectar gatos, as novas variantes ganharam a habilidade de replicar em gatos e têm sido isoladas de felinos domésticos e selvagens. Diversos estudos relatam o isolamento de CPV-2a/2b em amostras fecais de gatos domésticos com panleucopenia.

Este projeto teve como objetivos realizar a caracterização molecular e determinar a diversidade genética das variantes de parvovírus associadas a casos de diarreia em felinos domésticos no estado do Rio de Janeiro.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Um total de 25 amostras fecais de gatos com até um ano de idade, coletadas no período de 2008 a 2017, previamente testadas para a presença do genoma viral foram analisadas. Inicialmente, o genoma viral foi extraído a partir das suspensões fecais 10% com o uso do kit *High Pure Viral Nucleic Acid Kit* (Roche), conforme instruções do fabricante. Para amplificação do gene que codifica a proteína de capsídeo viral VP2 (fragmento de 1755pb) foi realizada a reação em cadeia pela polimerase (PCR) utilizando cinco pares de iniciadores: três desenhados para este estudo, CPV-5For/Rev (2307-2970), CPV-4For/Rev (2951-3578), CPV-8For/Rev (2948-3582) e outros dois descritos na literatura, 555For/555Rev (4003-4585) e HFor/HRev (3556-4183). Para sequenciamento, após purificação dos produtos das reações de amplificação com o kit *High Pure PCR purification* (Roche), a reação foi realizada utilizando o *Big Dye Terminator® v 3.1 Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems®, CA, USA) no Sequenciador automático “ABI Prism 3130 Genetic Analyzer” (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) do LMMP do MIP/CMB/UFF. As sequências nucleotídicas (e as aminoacídicas deduzidas a partir das mesmas) foram alinhadas utilizando o método *CLUSTAL W*, contido no programa *BioEdit®7.21* e comparadas com outros isolados obtidos no *GenBank*. Para determinar o melhor modelo a ser usado para calcular as distâncias evolutivas foi usado o programa *MEGA v.7.0.2*, que determinou o modelo T92 + G + I como o melhor a ser utilizado neste estudo. A significância estatística das diferentes filogenias foi obtida pelo método *Maximum Likelihood (ML)* através de 2.000 réplicas de *bootstrap*

A análise dos fragmentos de 1755pb obtidos a partir das 25 amostras revelou a presença de

mudanças de nucleotídeos em 48 posições ao longo do fragmento amplificado, sendo 32 sinônimas e 16 não sinônimas. Com base nos aa importantes para definição do espectro de hospedeiro felino, oito sequências foram caracterizadas como FPV e 16 como CPV (sete CPV-2a e nove CPV-2b). Uma sequência (RJ1085/11) não pode ser caracterizada, no entanto, apresentou nos resíduos 80, 93, 103, 300 e 323 aa típicos de CPV-2. Com exceção da RJ1085/11, as 24 sequências apresentaram alteração não sinônima no resíduo 101 Ile→Thr, a qual já é descrita desde meados da década de 1960. Alterações descritas nos resíduos 14 (Ala→Thr) e 91 (Ala→Ser), em isolados de FPV a partir de 2005, também foram observadas nas sequências deste estudo.

Algumas sequências apresentaram mudanças nos resíduos 297(Ser→Asn e Ser→Ala) e 324 (Tyr→Leu), os quais são adjacentes aos aa 300 e 323 respectivamente, e implicados na definição do espectro de hospedeiro. A alteração no aa 297 (Ser→Ala) descrita desde 1990 em sequências de CPV de caninos e felinos domésticos e selvagens, se tornou predominante nos tipos 2a e 2b em diferentes países, inclusive no Brasil. Por outro lado, a mudança Ser→Asn só foi detectada, até o momento, nas variantes de CPV-2a/2b obtidas a partir de amostras fecais de cães domésticos com enterite no Brasil, Argentina e Uruguai.

As variantes de CPV (2a/2b) detectadas em gatos (7/25) a partir de 2012, apresentaram mudança no aa 324 (Tyr→Leu), a qual só foi descrita, até momento, em sequências de CPV-2b obtidas de cães diarreicos nos anos de 2014-2015 em Belém, PA. A real importância desta alteração não está clara.

Na análise filogenética, as sequências felinas formaram dois grandes clados, um contendo as oito sequências de FPV e outro com as 16 de CPV. As sequências caracterizadas como CPV (2a/2b/2c) com alteração no resíduo Leu324 formaram um clado separado das demais sequências de CPV. De acordo com a presença de aa característicos de FPV ou CPV nas posições 564 (Asn→Ser) e 568 (Ala→Gly), pode-se observar sub-divisão deste clado.

Em estudos anteriores do grupo, estas amostras fecais de felinos foram também testadas, por RT-PCR e seqüenciamento, para a presença de outros vírus de gastroenterites: coronavírus,

norovírus, astrovírus e rotavírus do grupo-A. Destas 25 amostras positivas para parvovírus, 12 também foram positivas para outros agentes, e 11/12 animais apresentaram diarreia não hemorrágica. Entre os quatro que evoluíram a óbito, apenas um apresentou coinfeção.

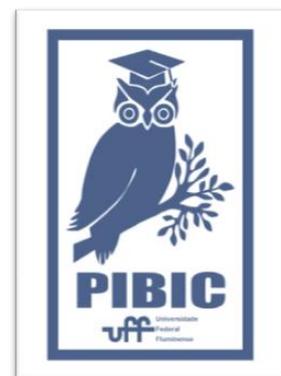
#### **CONCLUSÕES:**

A análise das sequências de gatos domésticos deste estudo mostrou, pela primeira vez no Brasil, a detecção das novas variantes de CPV (2a/2b) na espécie felina. (16/25 amostras).

A detecção de sequências em gatos com mutações características de sequências caninas sugerem que mesmo sendo considerado um grupo mais homogêneo que os CPVs, o FPV também vem sofrendo variações e estão sujeitos a eventos evolutivos.

Estes achados indicam que uma avaliação contínua das amostras de parvovirus circulantes na população felina é necessária para uma melhor compreensão dos mecanismos que impulsionam a evolução do FPV/CPV no Brasil e sua importância epidemiológica.

**Agradecimentos:** CNPq, Proppi-UFF





**Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias**

**Título do Projeto : Uso de métodos moleculares na detecção de micoplasmas em diferentes ectoparasitas de importância médico-veterinária**

**Autores: Nathalia Xavier da Silva; Julia Alves Vignoli; Arthur de Almeida Figueira; 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:**

As micoplasmoses são infecções causadas por microrganismos da classe mollicutes do gênero *Mycoplasma* e acomete diversos animais. Esses microrganismos são encontrados nas mucosas do trato respiratório e urogenital, nos olhos, no tubo digestivo, nas glândulas mamárias e nas articulações causando doenças respiratórias e mastite nos bovinos, além de síndromes respiratórias em aves causando impacto direto na produção (GUIMARÃES; LEFFER, 2009)

A transmissão de *micoplasma* ocorrer principalmente através da propagação desse agente entre os animais, além do contato direto com secreções dos animais infectados e a transmissão venérea. Além disso, no caso dos bezerros e cabritos o leite torna-se um importante meio de contaminação (STRAIT; MADSEN, 2013)

Os ectoparasitas possui 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.

A associação entre micoplasmas e ectoparasitas foram descritas desde o século XIX por Nocard & Roux (1898), porém pouco ainda se sabe sobre essa relação. Além disso, acredita-se que uma pequena parte dos Mollicutes foram descobertos e identificados, e o modo como esses microrganismos são transmitidos também não é bem estabelecido.

O objetivo geral do presente trabalho foi detectar *Mycoplasma* spp. em pulgas, carrapatos e piolhos de diferentes hospedeiros e, como objetivos específicos, coletar e realizar a classificação taxonômica dos pulgas, carrapatos, piolhos e ácaros coletados de aves, caprinos; bovinos, caninos e felinos; Avaliar pela reação da cadeia da polimerase (PCR) convencional como técnica molecular de escolha para detectar a presença de *Mycoplasma* spp. nos ectoparasitas coletados; Realizar a análise de sequenciamento das amostras positivas encontradas para determinação das espécies e gêneros de *Mycoplasma*.

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Foram coletados no total 325 ectoparasitas entre as espécies *Ctenocephalides felis*, *Ctenocephalides canis*, *Argas Miniatus Menacanthus stramineus*. Essas amostras foram submetidas a processos de extração de DNA (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998), a reação de PCR para o diagnóstico de microrganismos da classe Mollicutes, onde foi utilizados protocolos para *Mycoplasma* spp, *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma synoviae* e *Mycoplasma gallisepticum*. O produto da PCR

foi lida através da eletroforese de gel de agarose. As amostras positivas, foram purificadas e enviadas para o sequenciamento e confirmação do genoma.

Do total de amostras processadas, 42 apresentaram resultados positivos para a reação de PCR (Tabela 1).

Das amostras analisadas a partir do sequenciamento foram identificadas o genoma do gênero *Spiroplasma*, que também faz parte dos Mollicutes.

*Spiroplasma* é uma bactéria que também pertence a Classe Mollicutes, e já é conhecido por ser capaz de habitar em carrapatos. Além disso, essa bactéria possui como característica associação com diversas doenças de plantas, é possui uma importância na plantação de vegetais. (MASSOLA JÚNIOR et al. 1999b).

Estudos indicam associação entre alguns membros do gênero *Mycoplasma* ao grupo do Spiroplasma, incluindo, por exemplo, *M. mycoides*, indicando assim que o gênero tenha diversas origens (GASPARICH, 2004).

## CONCLUSÕES:

Com os resultados do sequenciamento ainda não conseguimos estabelecer uma associação entre os diferentes ectoparasitas estudados e a transmissão de *Mycoplasma*. Dos resultados das amostras sequenciadas até o momento foram identificadas o genoma do Gênero *Spiroplasma* nas pulgas analisadas.

Com a continuidade do projeto por mais um ano, coletas foram feitas e estão passando pelo processamento proposto, além disso, novas coletas estão marcadas para a continuidade das atividades. O sequenciamento do genoma e a identificação para o gênero *Spiroplasma* indicou que o grupo de primers utilizados no estudo reconheceu uma região do genoma que é comum aos dois gêneros, por isso para análise mais específica, novos grupos de primers serão

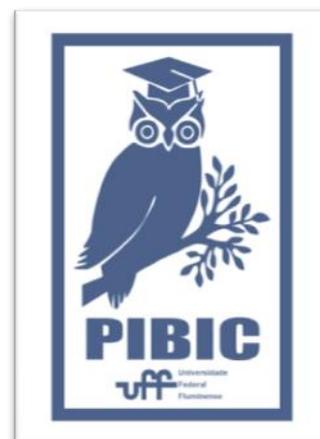
usados, afim de uma melhor especificidade da reação.

## Agradecimentos:

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

Tabela 1 - Frequências absolutas e relativas dos resultados positivos de ectoparasitas infectados naturalmente por microrganismos da classe Mollicutes, identificados por meio da reação de reação em cadeia da polimerase. Coletas realizadas no período de agosto de 2017 a agosto de 2018.

Espécie ectoparasita	Frequência Absoluta	Frequência Relativa
<i>Ctenocephalides felis</i>	37	26%
<i>Ctenocephalides canis</i>	5	19%





**Grande área do conhecimento:** Ciências Agrárias

**Título:** Situação epidemiológica da Micoplasmose e lentivirose em caprinos e ovinos no Estado do Rio de Janeiro

**Autores:** ALMEIDA M.S.; VIGNOLI, J.A; BALARO, M.F. A.; MACHADO, L.S.; CUNHA N.C.; NASCIMENTO, E.R.

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

## INTRODUÇÃO:

A caprinovinocultura vêm se destacando como uma atividade viável em diversas regiões do país e se encontra em constante expansão na região sudeste devido à resistência destes animais às condições ambientais. Dentro desta atividade, a produção de leite, carne e queijos, desempenha um importante papel sócio-econômico. Entretanto, problemas relacionados ao manejo e sanidade animal continuam sendo as principais causas na queda do desempenho zootécnico e econômico dos rebanhos (EMBRAPA, 2012). Dentre as doenças imunossupressoras que podem acometer caprinos e ovinos, destacam-se as Lentivirose causadas pelos Lentivírus dos Pequenos Ruminantes (LVPR) e as micoplasmoses, ambas caracterizadas por lesões articulares, pulmonares, oculares e na glândula mamária. Estas enfermidades fazem parte da Lista da Organização Mundial de Saúde Animal – OIE e, conseqüentemente, do Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos (PNSCO), e são sujeitas a embargos econômicos previstos tanto pelo PNSCO quanto pelo Programa Estadual de Sanidade dos Caprinos e Ovinos (PESCO) (CASTRO, 2006). Dentre as medidas a serem adotadas destacam-se o cadastro de estabelecimentos, o controle de trânsito de animais, a certificação de estabelecimentos, o cadastramento de médicos veterinários do setor privado e o credenciamento de laboratórios para a realização de exames diagnósticos das doenças de controle oficial (MAPA, 2009). Portanto, diante da importância da caprinovinocultura e do monitoramento/manutenção da sanidade de rebanhos de caprino e ovinos, este trabalho visa determinar a prevalência de lentivirose e micoplasmoses em estabelecimentos do Rio de Janeiro. Foram coletadas 172 amostras de doze propriedades durante o período de 2017-2018

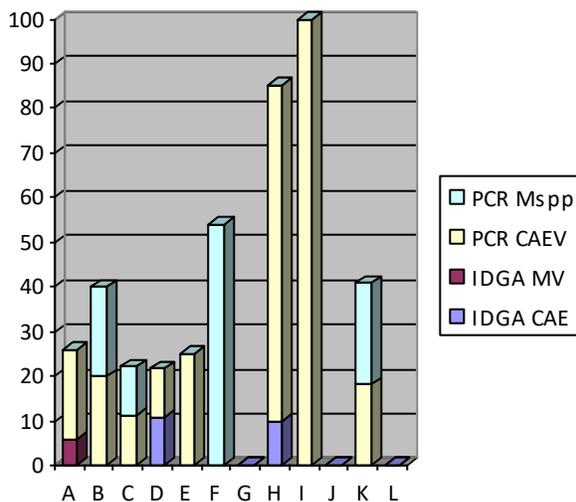
objetivando-se a detecção sorológica por IDGA para CAE e Maedi-Visna e molecular por PCR para *Mycoplasma* spp, CAE e Maedi-Visna em rebanhos caprinos e ovinos. Amostras de sangue foram centrifugadas, dessoradas e submetidas a IDGA enquanto amostras com o anti-coagulante, enviadas para a realização da Nested-PCR. Além disso, foram obtidos suabes nasais e vaginais de cinco propriedades visando a detecção genérica de *Mollicutes* por PCR. 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 foi feita pelo método do fenol-clorofórmio-álcool isoamílico, adaptado de Gregory et al.(1989) enquanto para suabes orofaríngeos de ovinos a extração foi feita pelo método de fenol – clorofórmio, adaptado de Sambrook et al.(1989). 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). O resultado da amplificação foi submetido a corrida eletroforética em gel de agarose a 1,5% submerso em Tampão Tris-Borato-EDTA (TBE). Após a eletroforese, o gel foi corado em Gel Red® e a visualização de amplicons feita em transiluminador sob luz ultravioleta.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Um total de 37 ovinos foram testados à PCR para *Mycoplasma* spp. (propriedades K e L), 13,51% (5/37) foram positivos, sendo todos da propriedade K (5/22). De 27 caprinos testados para *Mycoplasma* spp., 33,33% (9/27) foram positivos em B (1/5), em C (1/9) e F (7/13). A positividade para CAE ao IDGA foi de 6,54% (7/107). A proporção de propriedades positivas foi de 25% (2/8), as duas positivas foram D e H, enquanto que as outras foram negativas ao IDGA (A, B, C, E, G e I).

Já no IDGA para Maedi-Visna, 5,88% (1/17) dos animais foram positivos envolvendo duas propriedades (J e K) sendo J positiva e K negativa. Do total de 144 ovinos e caprinos submetidos a Nested-PCR para CAE, 18,05% (26/144) foram positivos, a proporção de propriedade positivas foi de 83,33% (10/12) sendo somente duas propriedades (G e L) negativas (gráfico 1). A elevada frequência, de ambas enfermidades, nessas propriedades demonstra a pouca exigência em sistemas de criação extensiva e semi intensiva, já que na maioria das vezes, o manejo nutricional e sanitário desses animais nesse tipo de criatório é deficiente, facilitando a ocorrência de doenças. Já o confinamento dos animais em locais estreitos e amamentação coletiva de cordeiros e cabritos explica o elevado número de animais infectados em criatórios de caráter intensivo.

Gráfico 1: Resultados positivos encontrados nos estabelecimentos estudados

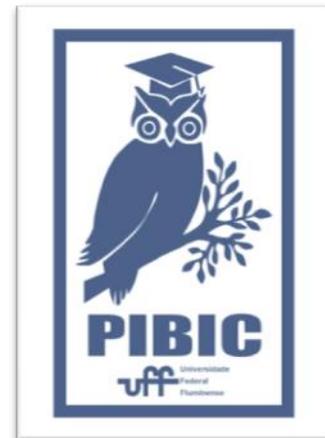


## CONCLUSÕES:

A alta porcentagem de lentivirose entre caprinos e ovinos é indicativo de rápida disseminação desse agente entre os animais. Por outro lado, a baixa positividade animal torna viável um programa de controle com base na eliminação de animais positivos de cada propriedade, em face da inexistência de vacina. Este mesmo programa de testagem e eliminação de animais positivos pode ser empregada para a micoplasmose, com chance de êxito devido a baixa positividade animal e por propriedades. Existindo manifestação clínica pode ser instituído tratamento com antimicrobiano eficaz para mollicutes. A ocorrência de ambas enfermidades está relacionada, também, ao sistema de produção, podendo causar perdas econômicas significantes, além de ser limitadora do comércio internacional. Por isso é importante aliar as práticas de manejo adequadas junto às técnicas de diagnóstico sorológico e molecular para fins de erradicação.

## Agradecimentos:

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica  
À Faperj pelos recursos financeiros.





**Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias**

**Avaliação da concentração sérica de ceruloplasmina em potros muares com e sem evidências clínicas de doenças respiratórias.**

**João de Fraipont Castañon; Mariana Parrini Ferreira; Roberta Tosta, Daniel de Barros Macieira, 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:**

Apesar de já estar estabelecida a semelhante incidência de doenças respiratórias em muares adultos em comparação a cavalos adultos, no que abrange os potros de muares ainda há pouca informação divulgada.

A maior parte do trato respiratório é similar entre cavalos e muares, porém diferenças anatômicas e fisiológicas podem ter significativo impacto para a incidência de infecções, morbidade e tratamento das doenças respiratórias. (THIEMANN, 2011)

Em alguns casos, muares apresentam um retardo no aparecimento dos sinais clínicos da doença, em comparação aos equinos. A identificação bioquímica das proteínas de fase aguda é uma das alternativas de identificação de marcadores para o tempo de curso e grau de inflamação. Em resposta à infecção ou lesão, estas proteínas são rapidamente liberadas na corrente sanguínea e as suas concentrações estão diretamente relacionadas com a gravidade da doença (CRISMAN, 2008).

A resposta de fase aguda é uma reação inflamatória não específica e complexa, que visa minimizar o dano tecidual, melhorar o processo de reparação e restaurar a homeostase após infecção, trauma ou estresse. Esta resposta é estimulada quando as células lesadas liberam metabólitos do ácido araquidônico e radicais livres provenientes do estresse oxidativo. A ceruloplasmina é uma glicoproteína componente das  $\alpha_2$  globulinas que tem ação direta antioxidativa, protegendo os tecidos do oxigênio tóxico liberado no metabolismo das células fagocíticas durante os quadros inflamatórios. Além disso, atua no transporte de cobre no

sangue, tem atividade ferroxidase facilitando a oxidação do ferro da forma ferrosa ( $Fe^{2+}$ ) para a forma férrica ( $Fe^{3+}$ ), e mobiliza ferro dos estoques teciduais (CÉRON e MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005).

A avaliação da concentração de proteínas de fase aguda pode auxiliar na avaliação da saúde de animais, incluindo a gravidade de uma afecção, além de permitir a monitorização do processo de resolução da doença (CRISMAN, 2008).

As amostras de soro utilizadas foram provenientes de potros muares submetidos a uma avaliação endoscópica do trato respiratório e posterior lavado traqueal para avaliação citológica para separar os animais em grupo de sadios e doentes, esses dados foram tabelados e utilizados como guia nas dosagens. O soro foi separado por centrifugação e estocado a  $-80^{\circ}C$  no ano de 2011 e 2012 e processado em 2017. A determinação da ceruloplasmina foi realizada conforme técnica padronizada (Sunderman e Nomoto, 1970). As amostras foram dosadas e separadas em dois grupos (T1 e T2), provenientes de duas coletas consecutivas com um intervalo de 60 dias do mesmo animal. Todas as dosagens foram realizadas em duplicata. Os valores obtidos foram tabelados para posterior análise.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Os animais nesse trabalho tiveram uma média de  $63,4 \pm 40,7$  dias de idade, e não houve diferença significativa na idade entre o grupo de Sadios contra o de Doentes ( $62,1 \pm 41,9$  dias vs  $63,0 \pm 39,5$  dias). Após organizar os resultados

foram criados quatro grupos para análise: Doentes T1; Sadios T1; Doentes T2; Sadios T2. Com intuito de avaliar as diferenças de concentração (mg/dL) de Ceruloplasmina em animais de idades diferentes e seus níveis em animais doentes e sadios. Os grupos foram confrontados estatisticamente entre T1 Sadios contra T2 Sadios ( $10,3843 \pm 4,76310$  mg/dL vs  $16,2014 \pm 3,41967$  mg/dL); T1 Doentes contra T2 Doentes ( $11,4543 \pm 5,74337$  mg/dL vs  $20,4429 \pm 9,85784$  mg/dL); entre o grupo total de Sadios contra o total de Doentes ( $14,7310 \pm 5,67372$  mg/dL vs  $15,6370 \pm 8,07359$  mg/dL).

Não foram encontradas diferenças significativas entre os animais sadios contra doentes ( $p= 0,684$ ) e entre doentes de cada tempo ( $p= 0,436$ ). Porém, ao se analisar o efeito idade nos animais sadios (T1 vs T2) foi encontrado um aumento significativo entre os dois tempos ( $p= 0,035$ ).

Até o momento há poucos estudos das flutuações de concentração da ceruloplasmina sobre a resposta inflamatória nos animais, sendo considerada uma proteína de fase aguda de baixa sensibilidade em comparação a Proteína C-Reativa e a Haptoglobina (ECKERSALL; SAINI; MCCOMB, 1996) e (CECILIANI et al., 2012).

A baixa resposta inflamatória em comparação a outras proteínas de fase aguda, tem sido relatado atividade da ceruloplasmina em situações de estresse como no desmame precoce de bezerros para transporte (ARTHINGTON et al., 2008) e ao trauma cirúrgico em cães (CÉRON e MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005 e KUM et al., 2013).

## CONCLUSÕES:

No nosso trabalho ao encontrar um aumento significativo entre T1 e T2 entre os animais sadios e sem diferenças significativas nos outros grupo, podemos concluir que há alguma relação entre concentração plasmática da Ceruloplasmina e o amadurecimento do animal hígado já que houve um intervalo de 2 meses entre as duas coletas, porém não foi constatada qualquer relação da sua concentração com o estado de morbidade do animal. São necessários novos estudos, principalmente relacionando a proteína em outros modelos experimentais, onde pela literatura pesquisada o de estresse demonstra ser de grande importância.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ARTHINGTON, J. D. et al. Effects of preshipping management on measures of stress and performance of beef steers during feedlot receiving1. *Journal Of Animal Science*, [s.l.], v. 86, n. 8, p.2016-2023, 1 ago. 2008. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.2527/jas.2008-0968>.
- CARNEIRO, Vanessa Couto et al. Microbiological Findings in Tracheal Wash From Mule Foals With and Without Clinical Evidence of Respiratory Disease. *Journal Of Equine Veterinary Science*, [s.l.], v. 55, p.40-43, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2017.01.019>.
- CECILIANI, F. et al. Acute phase proteins in ruminants. *Journal Of Proteomics*, [s.l.], v. 75, n. 14, p.4207-4231, jul. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2012.04.004>.
- CERÓN,, J. J., ECKERSALL,, P. D. AND MARTÍNEZ-SUBIELA, S. (2005), Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*, 34: 85–99. doi:10.1111/j.1939-165X.2005.tb00019.x
- CRISMAN, M.V.; SCARRATT, W.K.; ZIMMERMAN, K.L. Blood proteins and inflammation in the horse. *Vet. Clin. Equine*, v.24, p.285-297, 2008.
- ECKERSALL, P.d.; SAINI, P.k.; MCCOMB, C.. The acute phase response of acid soluble glycoprotein,  $\alpha$ 1-acid glycoprotein, ceruloplasmin, haptoglobin and C-reactive protein, in the pig. *Veterinary Immunology And Immunopathology*, v. 51, n. 3-4, p.377-385, jun. 1996. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0165-2427\(95\)05527-4](http://dx.doi.org/10.1016/0165-2427(95)05527-4).
- ECKERSALL, P.d.. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. *Revue de Médecine Vétérinaire*, Glasgow, v. 7, n. 151, p.577-584, jan. 2000.

- GUTTMANN, PAULA DE MATTOS. Avaliação clínica, Hematológica e citológica de lavado traqueal em potros muares sadios e portadores de pneumopatias de 0 a 6 meses de idade. 2013. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Clínica e Reprodução Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2013. Disponível em: <<http://www.uff.br/var/www/htdocs/clinicaveterinaria/teses/M265.pdf>>. Acesso em: 25 mar. 2018.

- KUM, Cavit et al. Effects of carprofen and meloxicam on C-reactive protein, ceruloplasmin, and fibrinogen concentrations in dogs undergoing ovariectomy. American Journal Of Veterinary Research, [s.l.], v. 74, n. 10, p.1267-1273, out. 2013. American Veterinary Medical Association (AVMA). <http://dx.doi.org/10.2460/ajvr.74.10.1267>.

- SANCHEZ, N.M.R.; FERNANDEZ-CONDE, M.E.; OLIVER A.C.; HURTADO, S.J.A.; SAMANIEGO, M.M. Alkaline phosphatase isoenzymes in serum and bronchoalveolar lavage from patients with bronchopulmonary disease. Anales de Medicina Interna, v.17, p.182-185, 2000.

- SUNDERMAN JR, F.W.; NOMOTO, S. Measurement of human serum ceruloplasmin by its p-phenylenediamine oxidase activity. Clinical Chemistry, v.16, p.903-910, 1970.

- THIEMANN, A. Respiratory disease in the donkey. Equine Veterinary Education 2012; 24 162 (9):469-47.

**Agradecimentos:**

Ao grupo de pesquisa HIPIATRAS (CNPq/UFF);

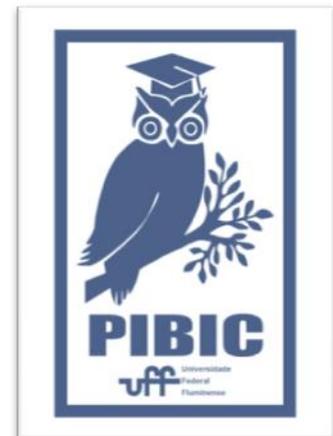
Ao financiamento cedido pelo PIBIC(CNPq – UFF);

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



Figure 2: Logo HIPIATRAS

Figure 1: Logo PIBIC





## Ciências Agrárias

### AÇÃO ANTIOXIDANTE DO ÁCIDO ALFA-LIPÓICO SOBRE A VESÍCULA URINÁRIA DE RATOS DIABÉTICOS

**Introdução:** Dentre as comorbidades mais comuns associadas ao diabetes encontramos a bexiga neurogênica. A lesão tecidual ocasionada pela hiperglicemia crônica está relacionada com o aumento do estresse oxidativo, acarretando neuropatia e microangiopatia periférica. Diversos estudos relacionam o uso de uma terapia antioxidante a fim de prevenir ou reduzir os efeitos da hiperglicemia crônica sobre órgãos e tecidos. O ácido alfa-lipóico (AAL) ou ácido tiocítico é um poderoso antioxidante, que já apresentou potencial efeito protetor, inclusive em indivíduos diabéticos, o que o aponta como possível tratamento complementar a insulino-terapia, a baixo custo e sem contraindicações.

**Objetivo:** Avaliar os efeitos da suplementação dietética com o Ácido Alfa-lipóico sobre a morfologia da bexiga de animais com Diabetes induzida pela Estreptozotocina.

**Método:** Este trabalho foi aprovado pelo CEUA-UFF, sob o número 799/2017. Utilizamos 40 ratos Wistar, divididos em 4 grupos: Grupo Controle (C): alimentados com dieta controle à base de caseína; Grupo Controle Lipóico (CAL): alimentados com dieta adicionada de Ácido Alfa-lipóico (300 mg/Kg de peso vivo); Grupo Diabético Controle (GDC): ratos diabéticos, alimentados com dieta controle; Grupo Diabético Lipóico (GDA): ratos diabéticos, alimentados com dieta com AAL. Para indução do Diabetes, os vinte animais receberam uma única injeção intraperitoneal de Estreptozotocina (STZ) na dose de 60 mg/kg em tampão de Citrato de Sódio (pH = 4,5). Três dias após a administração de STZ, a glicemia foi aferida em todos os animais, respeitando o jejum de 10 horas, por punção da veia caudal. Níveis glicêmicos iguais ou

superiores a 270 mg/dl foram caracterizados como indução diabética. Semanalmente até o término do experimento foram quantificados os níveis séricos de glicose. Decorridas 8 semanas do estabelecimento da Diabetes, todos os animais foram eutanasiados, e as bexigas foram coletadas e processadas para técnica padrão para inclusão em parafina. Foram realizadas as colorações de rotina e colorações especiais para avaliação morfológica e morfométrica. Para a análise estatística foi utilizado o Teste ANOVA univariada associado ao teste de Tukey-Kramer, considerando significativo  $p < 0,05$ .

**Resultados:** Os achados histomorfométricos para a altura epitelial e distribuição tecidual de tecido conjuntivo e muscular das bexigas dos grupos testados foram expressos na forma de média e desvio padrão.

Tecido Epitelial: Grupo Controle (GC)  $11.914 \pm 1.201 \mu\text{m}$ ; Grupo Controle Lipóico (GCAL)  $12.207 \pm 1.475 \mu\text{m}$ ; Grupo Diabético Controle (GDC)  $14.145 \pm 3.080 \mu\text{m}$ ; Grupo Diabético Lipóico (GDAL)  $13.981 \pm 1.629 \mu\text{m}$ .

Tecido Conjuntivo Grupo Controle (GC)  $38.700 \pm 4.762 \mu\text{m}$ ; Grupo Controle Lipóico (GCAL)  $37.188 \pm 4.053 \mu\text{m}$ ; Grupo Diabético Controle (GDC)  $29.188 \pm 4.833 \mu\text{m}$ ; Grupo Diabético Lipóico (GDAL)  $26.800 \pm 6.270 \mu\text{m}$ .

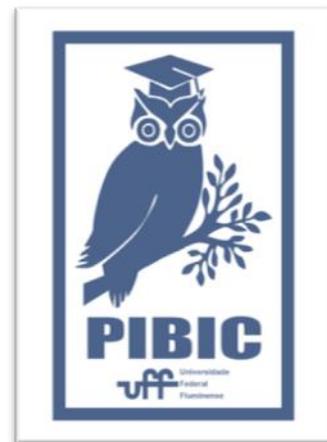
Tecido Muscular liso Grupo Controle (GC)  $26.444 \pm 6.064 \mu\text{m}$ ; Grupo Controle Lipóico (GCAL)  $22.412 \pm 4.459 \mu\text{m}$ ; Grupo Diabético Controle (GDC)  $39.917 \pm 4.999 \mu\text{m}$ ; Grupo Diabético Lipóico (GDAL)  $40.600 \pm 3.814 \mu\text{m}$ .

**Conclusão.** A Hiperglicemia Crônica provocou um discreto aumento na espessura do epitélio vesical, porém a administração do ácido alfa lipóico não

demonstrou exercer efeito significativo sobre a altura epitelial. Este resultado se repetiu ao analisar a tecido conjuntivo e a distribuição de fibras musculares lisas na parede vesical, desta forma nossos dados sugerem que o ácido alfa lipóico não

exerce efeitos benéficos em nenhum dos parâmetros morfológicos utilizados.

**Palavras-Chave:** Bexiga; Diabetes; Ácido Alfa-lipóico; Morfologia; Antioxidantes





## Ciências Agrárias

Multirresistência a antimicrobianos em cepas de *Escherichia coli* dos patótipos EPEC e STEC isoladas de carcaças de frango no Rio de Janeiro

**Gisllany Alves da Costa, Hugo Peralva Lopes, Ana Luisa O.C. Carneiro, Isabela E.B.B. Rodrigues, Thomas Salles Dias, Leandro dos Santos Machado, Daniele Soares Filho, Luisa Cristina P.V. Alves, Arthur de Almeida Figueira, Jéssica Francisco de Oliveira, Heitor Dias Carneiro, Dayse Lima da Costa**

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

### INTRODUÇÃO:

As aves são portadoras de cepas de *Escherichia coli* patogênicas para o homem, destacando-se os patótipos enteropatogênico (EPEC) e shigatoxigênico (STEC) (DOREGIRAE, 2016; ALONSO, 2012; DUTTA, 2011) que se constituem em patógenos de importância na saúde pública pelo potencial de causarem doenças entéricas no homem e pela possível emergência de isolados multirresistentes. A presença de cepas multirresistentes em alimentos de origem avícola pode significar um risco ao consumidor por limitar o sucesso do tratamento das enfermidades causadas por esses patótipos. Para indexar esse risco, Krumperman (1983) desenvolveu o Índice de Resistência a Múltiplos Antimicrobianos (MAR - *Multiple Antibiotic Resistance*). Indiretamente, este índice mede o risco de disseminação que determinada amostra representa na disseminação de cepas multirresistentes quando indivíduos são expostos, por ingestão ou manipulação de animais ou produtos contaminados (BARROS et al 2012;; CARDOSO et al, 2015). Índice MAR acima de 0,2 indica que a fonte estudada oferece maior risco de disseminação (KRUMPERMAN, 1983). Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo verificar a prevalência dos patótipos EPEC e STEC, em carcaças de frangos abatidos no Rio de Janeiro e caracterizar a multirresistência. Para isso, foram coletadas dez carcaças de seis diferentes abatedouros. As carcaças foram acondicionadas em sacos esterilizados e transportadas até Núcleo de Diagnóstico Avícola da UFF. Aos sacos foram acrescentados 400 ml de Solução Salina Peptonada a 1%. As amostras foram homogeneizadas manualmente e 10 ml de cada amostra foram transferidos para tubos

esterilizados e incubados por 24h a 37°C. Após esse período, as amostras foram semeadas em ágar *MacConkey* e incubadas nas mesmas condições. Três colônias com características de *E. coli* foram submetidas à caracterização bioquímica segundo MacFaddin (2000) utilizando-se os meios TSI, SIM, Citrato, VM e VP. Os cultivos considerados positivos foram submetidos ao teste de difusão em disco (CLSI, 2014) para detecção das cepas resistentes utilizando 12 antimicrobianos (amoxicilina/ácido clavulâmico, ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima, ácido nalidixico, ciprofloxacina, tetraciclina, gentamicina, cloranfenicol, enrofloxacina, amoxicilina/ácido clavulâmico, cefotaxima, ceftiofur e cotrimoxazol). Para caracterização de cepas multirresistentes foram consideradas aquelas que apresentaram resistência à três ou mais antimicrobianos, sendo também consideradas as cepas com resistência intermediária. O risco de disseminação de determinantes de multirresistência foi calculado pelo Índice MAR, (KRUMPERMAN, 1983), pela fórmula  $a/b$  ( $a = n^{\circ}$  de antibióticos para qual o isolado foi resistente;  $b = n^{\circ}$  de antimicrobianos testados). Utilizou-se a Reação em Cadeia da Polimerase para detecção do gene *eae*, que caracteriza o patótipo EPEC (DUTTA et al, 2011) e dos genes *stx-1* e *stx-2*, que caracterizam o patótipo STEC (VIDAL et al, 2005). Todas as amostras foram submetidas ao método térmico para extração do DNA. Para a reação de amplificação do gene *eae* foram adicionados a cada 100mM de DNA extraído, 1X Tampão 10X; 1,5mM de  $MgCl_2$ ; 0,2mM de dNTP; 0,4  $\mu M$  de cada *primer*; 1U de Taq Polimerase, totalizando o volume de 25 $\mu L$ . Na reação para detecção dos genes *stx-1* e *stx-2* foram adicionados a cada 100mM de DNA extraído, 1X de Tampão 10X; 2mM de  $MgCl_2$ ;

0,4mM de dNTP; 0,4µM de cada *primer*; 1U de Taq Polimerase, totalizando o volume final de 25µL. A amplificação foi realizada em um termociclador. Após prévia desnaturação a 94° C por 5 minutos, foram utilizados 30 ciclos de 94° C por 45 segundos, 59° C por 45 segundos, 72° C por um minuto e uma extensão final a 72°C por 6 minutos. Os produtos da foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5% e observados em um transiluminador sob luz ultravioleta.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Das 84 amostras isoladas, 32,1% (27/84) foram consideradas EPEC por apresentar apenas o gene *eae* e 9,5 % (8/84) foram consideradas como STEC por apresentarem os genes *stx1* e/ou *stx2*. Foram multirresistentes, por apresentarem Índice MAR>0,2 (KRUMPERMAN, 1983), 70,23% (59/84) das cepas isoladas, sendo 70,4% (19/27) das cepas EPEC e 37,5% (3/8) das cepas STEC (Tabela 1). Cepas do patotipo EPEC tem sido detectadas com maior frequência do que as cepas STEC em aves criadas no sistema convencional e em seus produtos (ALONSO et al., 2012; DOREGIRAE et al., 2016), assim como ocorrido no presente estudo. Independente do patotipo detectado, ambos têm grande importância em saúde pública por serem responsáveis por doenças entéricas no homem. Independente do patotipo de *E.coli* a multiresistencia apresentou alta frequência entre os isolados. Este resultando sugere que a fonte estudada oferece risco de disseminação de cepas multirresistentes ao consumidor podendo limitar o sucesso do tratamento das enfermidades bacterianas.

Tabela 1.Frequência de multirresistencia em cepas de *Escherichia coli* dos patotipos EPEC e STEC isoladas de carcaças de frango.

MAR	EPEC	STEC	NÃO EPEC/STEC	TOTAL
>0,2	19 (70,4%)	3 (37,5%)	37 (75,5%)	59 (70,2%)
≥0,2	8 (29,6%)	5 (62,5%)	12 (24,5%)	25 (29,8%)
TOTAL	27	8	49	84 (100%)

### CONCLUSÕES:

Nas condições deste estudo, as cepas EPEC prevaleceram sobre as cepas STEC. A presença de cepas de *E.coli* diarreio gênicas em

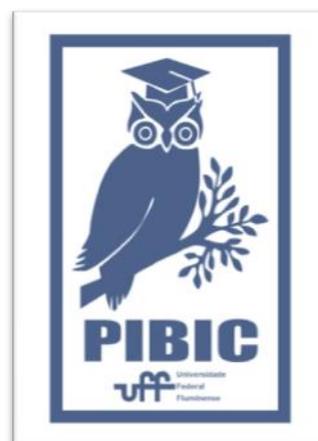
carcaças de frango ao abate indicam um potencial risco para o consumidor. Igualmente importante é a presença de cepas multirresistentes. Independente do patotipo, cepas multirresistentes podem ser veículos de determinantes de resistência antimicrobiana que podem ser transferidos às bactérias da microbiota intestinal.

### REFERENCIAS

- ALONSO, M.Z. et al. Food Control, v.23, n.2, p.351-355, 2012.  
 BARROS, L. M. et al. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., v.33, n.3,p.429-35, 2012  
 CARDOSO et al., Acta Sci Vet, v.44, n.1376. 2015.  
 CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement. CLSI document m100-s24. Wayne, pa: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.  
 DOREGIRAE, et al. Gastroenterol.Hepatol. v.9, n.1, p. 53-57, 2016.  
 DUTTA, et al. Indian J.Med.Res. v.133, n.5, p.541–545, 2011.  
 KRUMPERMAN, PH.. Appl. Environ. Microbiol. v.46, n.1,p.165–170,1983.  
 VIDAL, M. et al. J. Clin.Microbiol., v.43, n.10, p.5362-5365, 2005.

### Agradecimentos:

À PROPI pelo apoio financeiro.





## **Ciências Agrárias**

**Qualidade físico-química e microbiológica de dietas convencionais úmidas e dietas naturais para cães e gatos, comercializadas no estado do Rio de Janeiro, Brasil.**

**Erika Figueiredo Pereira. Luciana da Silva Souza Teixeira. Gabriela Garcia Mozart. Eliane Rodrigues. Marcos Aronovich. Eliana de F. M. Mesquita. Luiz Antonio Moura Keller.**

**Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Agrossocioambiental Sustentável/  
Faculdade de Veterinária/ Laboratório Sanidade do Pescado**

### **INTRODUÇÃO:**

Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET), o Mercado Pet Nacional - o qual a categoria pet food corresponde a 67,3% - teve o faturamento de R\$ 18,9 bilhões em 2016, apresentando um crescimento de 4,9% em relação ao ano anterior. Além de ocupar o 3º lugar no mercado mundial, atrás apenas dos Estados Unidos e Reino Unido.

Atualmente, a cada 10 residências, 6 possuem cão ou gato. Essa proximidade reflete na maior preocupação e interesse por parte dos tutores em relação a qualidade e segurança dos alimentos destinados a seus pets.

Por isso, o objetivo desta pesquisa é avaliar a qualidade microbiológica das dietas convencionais úmidas e dietas naturais para cães e gatos comercializadas no estado do Rio de Janeiro.

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Foram coletados 14 amostras, produzidos por 7 empresas. Deste total, 4 correspondem a dietas categorizadas como econômicas, 8 como premium, incluindo 2 snacks e 2 como dietas naturais. Sendo 3 lotes de cada um dos produtos, com separação trimestral, perfazendo um total de 42 amostras avaliadas.

As análises microbiológicas, número mais provável de coliformes, contagem total de mesófilos e contagem de bolores e leveduras foram realizados de acordo com a Instrução Normativa nº 62 do Ministério da Agricultura Pecuário e Abastecimento (MAPA). As análises físico-químicas seguiram os métodos estabelecidos pelo Instituto Adolfo Lutz. Considerando o limite de tolerância para coliformes de  $10^3$  UFC/g, exigido pelo

regulamento técnico da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para produtos cárneos processados destinados ao consumo humano, todas as categorias (econômica, premium e natural) de rações para felinos avaliadas ultrapassaram o limite máximo definido. Enquanto nas rações para cães, apenas as dietas naturais estão acima do permitido.

Todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas. Foi observado contagem acima do limite da técnica, 250 UFC/g nas categorias econômica para felinos e natural para cães e para gatos. As rações úmidas convencionais em sua maioria se tratam de produtos apertizados que garante eliminar os micro-organismos patogênicos e inibir o crescimento de micro-organismos deteriorantes, enquanto as dietas naturais além de não sofrerem este tipo de processamento, contem ingredientes predominantemente frescos, e por isso exigem maiores cuidados durante a manipulação dos alimentos. Isto reflete na maior contaminação encontradas nas dietas naturais, porém vale ressaltar, que mesmo as categorias dentro dos padrões recomendados, se mantiveram próximas ou no limite da técnica, o que nos indica também uma baixa eficiência do processamento destas rações úmidas convencionais.

De acordo com o histórico das empresas associadas à ABINPET, é inaceitável valores acima de  $10^3$  UFC/g para bolores e leveduras, todas as dietas para felinos e a dieta natural para cães extrapolaram este limite. A presença de fungos pode tornar-se um perigo à saúde dos animais, uma vez que, existem gêneros capazes de produzir micotoxinas que podem levar cães e gatos à morte, além de promover perda de nutrientes, alteração das propriedades organolépticas e redução da validade.

A composição centesimal das dietas comercializadas para cães e gatos pode afetar de forma negativa a saúde dos animais caso não proporcionem a quantidade adequada de nutrientes. Quanto a umidade, a média de todas as categorias (econômica, premium e natural) avaliadas estão em conformidade com o limite máximo de 84% permitido para alimentos úmidos.

Todas as dietas convencionais úmidas analisadas apresentaram níveis de proteína acima do mínimo estabelecido pelo MAPA. Porém, maiores níveis de proteína não garantem maior aporte de aminoácidos essenciais, assim como a qualidade da fonte proteica utilizada.

Sabendo que existe uma relação inversamente proporcional entre o teor de fibra e a digestibilidade da proteína da ração, a média de todas as amostras ultrapassaram o limite preconizado pelo MAPA para matéria fibrosa. O resultado obtido foi aproximadamente 8 vezes o limite máximo de fibra nas ração para felinos e 7 vezes nas rações para cães. Os valores de lipídeos, 1,09% nas dietas para gatos e 1,02% nas dietas para cães estão em conformidade com a legislação. As amostras analisadas respeitaram o valor máximo de 2,5% para matéria mineral, obtendo-se médias de  $0,50 \pm 0,21\%$  para rações felinas e  $0,71 \pm 0,10\%$  para rações caninas. Os valores de pH observados variam em torno de 6 a 7, ou seja, ligeiramente ácido a neutro. Na análise de BVT são determinados compostos básicos nitrogenados voláteis resultantes da ação enzimática autolítica e microbiana sobre proteínas musculares, além de outras substâncias, cujas quantidades variam com o tempo de armazenamento do produto, aumentando à medida que a deterioração avança. Todos os resultados situaram-se acima do limite de 30mgN/100g estabelecido pelo RIISPOA (BRASIL, 2017). A quantificação de TBARS, indicador da oxidação lipídica (ranço) resultou em média de  $23,81 \pm 1,14$  mg/kg para alimentos destinados a felinos e média de  $17,43 \pm 0,25$  mg/kg para alimentos destinados a caninos.

### CONCLUSÕES:

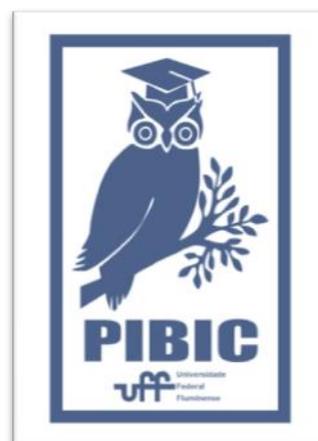
O controle de qualidade das dietas destinadas aos animais de companhia é de suma importância, visto que estes apresentam um papel social bem demarcado dentro dos lares da população brasileira, o que impacta no alto crescimento atualmente observado no mercado de *pet foods*. A ingestão de alimentos

contaminados por bactérias e/ou fungos e suas toxinas pode causar sérios problemas à saúde dos pets, no entanto, a legislação brasileira referente ao controle microbiológico de rações para animais é superficial, e não determina limites de contaminação.

Foi observado que a multiplicação bacteriana num geral se manteve dentro dos limites da legislação brasileira para alimentos de consumo humano. E, a multiplicação fúngica esteve presente em 4 das 6 categorias analisadas, considerando o regulamento técnico da União Europeia. Representando severos riscos à saúde dos pets e perda na qualidade das rações. Diante dos índices encontrados, recomenda-se a implementação de limites máximos para a contaminação fúngica na legislação brasileira em vigor.

### Agradecimentos:

Ao CNPq (Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro. À Universidade Federal Fluminense e ao Centro Estadual de Pesquisa em Qualidade de Alimento da Pesagro-Rio pelo apoio estrutural na condução da pesquisa.





## Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias

Avaliação da produção e acúmulo de nutrientes em *Lippia alba* cultivada em doses crescentes de composto contendo lodo de esgoto urbano.

Frederico Sá Tocantins, Carla Andreia da Cunha Martins, Adriano Portz, Fabiana Soares dos Santos

Departamento de Engenharia de Agronegócios, Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda,

Laboratório de Solos e Água

### INTRODUÇÃO:

A presença de matéria orgânica (MO) nos solos é fundamental para a manutenção da qualidade dos mesmos, já que ela auxilia na agregação das partículas do solo, aumenta a fertilidade, favorece a micro e meso faunas e retém água. O lodo de esgoto, resíduo proveniente de estações de tratamento de esgoto, é rico em matéria orgânica e seu uso agrícola já é regulamentado no Brasil pela Resolução CONAMA nº 375/2006 (BRASIL, 2006).

A erva cidreira (*Lippia alba*, Verbenaceae) é uma planta bastante utilizada pela ampla composição química do seu óleo essencial. Essa diversidade de componentes é responsável por suas várias utilizações na medicina popular e na fitoterapia, na indústria de alimentos, de perfumes e farmacêutica.

O objetivo do trabalho foi avaliar a produção de biomassa aérea e acúmulo de nutrientes em plantas de *L. alba* em diferentes tratamentos com doses crescentes de composto contendo lodo de esgoto em um solo da região Sul Fluminense do Estado do Rio de Janeiro

### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O uso de composto contendo lodo de esgoto (CLE), em doses de 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 t.ha<sup>-1</sup>, foi avaliado em relação à produção de massa seca da parte aérea das plantas e teores de nutrientes em plantas de *L. alba*.

A produção de massa seca das plantas nas duas coletas (Coleta 1 – a

colheita foi realizada após 90 dias do plantio das estacas; Coleta 2 – colheita realizada após 60 dias da rebrota das plantas após a Colheita 1) são apresentadas nas Figuras 1 e 2, onde nota-se que o composto teve efeito positivo no crescimento de todas as partes analisadas das plantas.

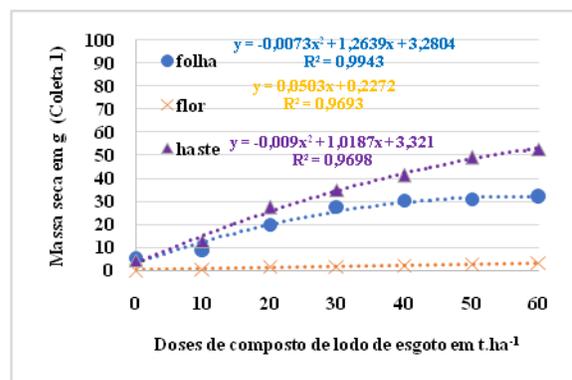


Figura 1. Massa seca (g) da Coleta 1 de *L. alba* adubada com doses de CLE em t.ha<sup>-1</sup>.

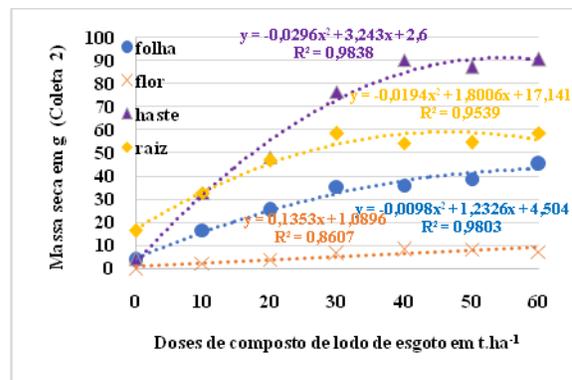


Figura 2. Massa seca (g) da Coleta 2 de *L. alba* adubada com doses de CLE em t.ha<sup>-1</sup>.

Houve crescimento expressivo nas concentrações de nitrogênio em todas as partes de todos tratamentos de ambas as coletas, destacando-se as folhas com maior acúmulo (Figuras 3 e 4). Esse acúmulo crescente era de se esperar já que o CLE era rico em nitrogênio disponível.

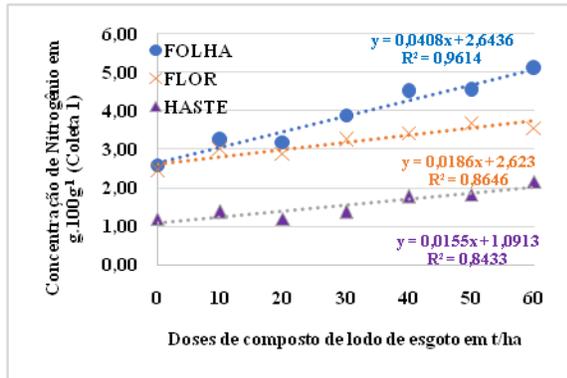


Figura 3. Concentração de N ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) da Coleta 1 de *L. alba* adubada com doses de CLE em  $\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$ .

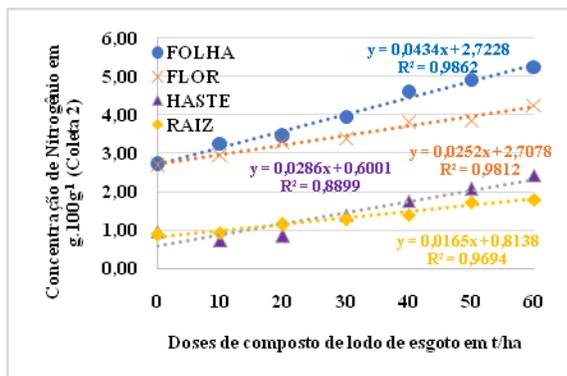


Figura 4. Concentração de N ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) da Coleta 2 de *L. alba* adubada com doses de CLE em  $\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$ .

Para o potássio, observou-se que houve decréscimo da concentração entre os tratamentos de acordo com o aumento da dose de lodo para folhas e hastes de ambas as coletas e também nas raízes, enquanto que para as flores houve estabilidade excetuando-se pelas testemunhas, resultados apresentados nas Figuras 5 e 6.

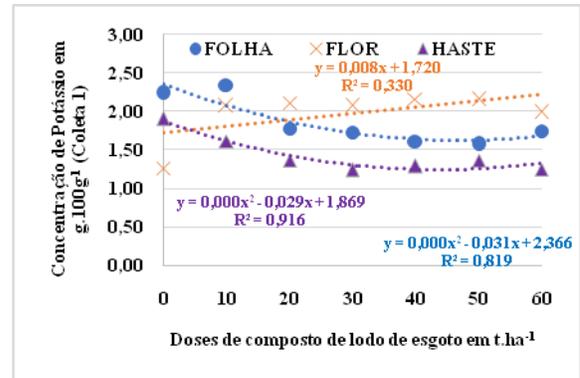


Figura 5. Concentração de K ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) da Coleta 1 de *L. alba* adubada com doses de CLE em  $\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$ .

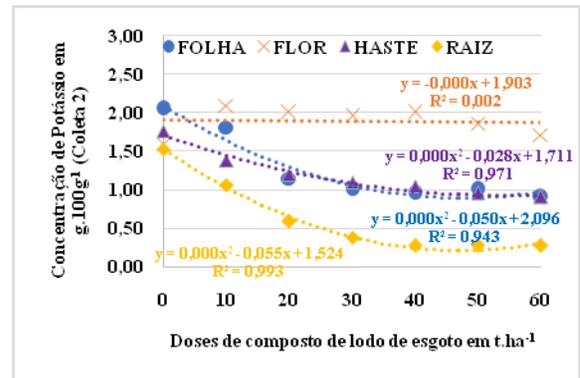


Figura 6. Concentração de K ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) da Coleta 2 de *L. alba* adubada com doses de CLE em  $\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$ .

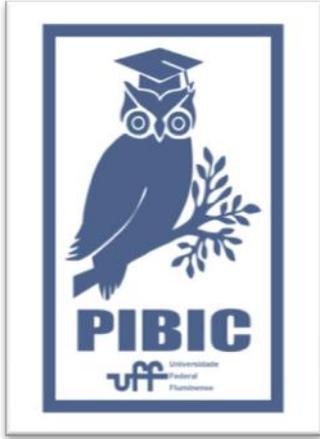
Esse cenário pode ser explicado por ter sido feita adubação uniforme de potássio para todas as plantas de todos os tratamentos, já que o CLE não tinha em sua composição quantidades expressivas deste elemento. Além disso, os maiores tratamentos produziram mais massa seca, o que pode ter reduzido a concentração de potássio.

## CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos provaram a eficiência do composto de lodo de esgoto no desenvolvimento das plantas de *L. alba*, favorecendo o acúmulo principalmente de nitrogênio em quantidades expressivas nas plantas.

## AGRADECIMENTOS:

À UFF e ao CNPQ pela bolsa PIBIC que fora oferecida ao primeiro autor.





**Ciências Agrárias**

## **IDENTIFICAÇÃO DE *Leptospira* sp. EM ÚTERO DE VACAS NATURALMENTE INFECTADAS**

**Lucas Figueiredo, Bruno Cabral Pires, Walter Lilenbaum**

**Departamento de Microbiologia e Parasitologia/Laboratório de Bacteriologia Veterinária**

### **INTRODUÇÃO:**

A leptospirose é uma antropozoonose 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 para a 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 (RADOSTITS et al., 2000).

É causada por bactérias do gênero *Leptospira*, do qual se conhecem atualmente 21 espécies patogênicas e não patogênicas com mais de 200 sorovares já identificados, cada um adaptado a seu hospedeiro de manutenção, mas podendo também acometer outras espécies (ADLER, 2015). A prática veterinária baseia-se na vacinação sistemática do rebanho, tratamento de animais doentes, controle dos roedores na propriedade e eliminação do excesso de água no ambiente (DE NARDI, 2005).

A identificação de bovinos positivos para leptospirose, bem como a demonstração de leptospirose em amostras clínicas, torna-se importante, pois existem poucos relatos acerca dos principais sorovares que podem acometer o trato genital de bovinos. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi determinar o estado de carreador uterino de *Leptospira* sp. em bovinos destinados ao abate no Estado do Rio de Janeiro.

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Foram coletadas amostras de fragmento uterino de 92 vacas randomicamente selecionadas, não prenhes, provenientes de distintos rebanhos de diferentes regiões dos estados do Rio de Janeiro, e destinadas ao abate em matadouros frigorífico sob inspeção estadual e federal.

Foram seccionados fragmentos de aproximadamente 1 cm<sup>3</sup> de cada corno uterino dos animais estudados.

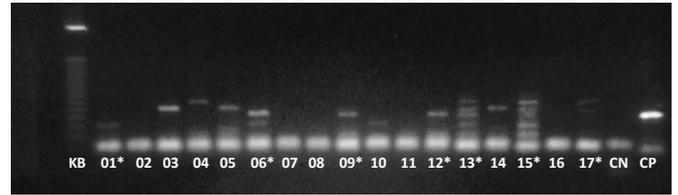
Foi possível identificar DNA de *Leptospira* sp. em 28/92 amostras de útero coletadas (30,44%), utilizando o gene *LipL32* como alvo genético. Partindo de duas amostras amplificadas na PCR, foi realizada a caracterização molecular das mesmas. O sequenciamento do gene *SecY* caracterizou os produtos obtidos como *L. interrogans*.

### CONCLUSÕES:

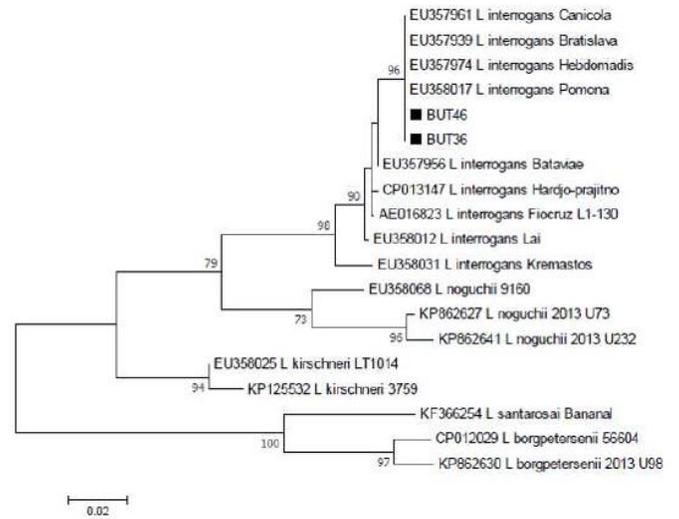
Foi possível identificar animais portadores uterinos de leptospiros patogênicas em bovinos abatidos. Também foi possível a realização da caracterização molecular de material genético de leptospira amplificado. Os resultados sugerem que a presença de leptospiros infecciosas no útero pode estar associada à fisiopatogenia da falha reprodutiva.

### Agradecimentos:

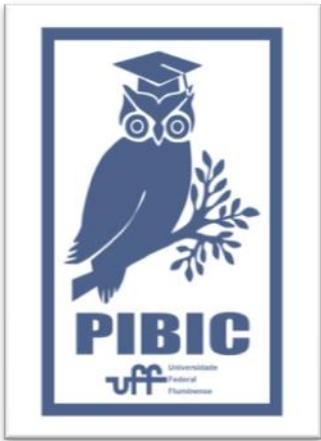
Gostaria de agradecer à equipe do Professor Walter Lilenbaum e do Laboratório de Bacteriologia Veterinária (LaBV) pelo apoio na realização deste projeto. Gostaria também de agradecer a Universidade Federal Fluminense pelo respeito com o programa PIBIC e também à CNPQ que possibilitaram a realização do presente trabalho.



**Figura 1 – Reação em Cadeia de polimerase em gel de agarose de DNA de fragmento uterino de vacas abatidas no estado do Rio de Janeiro. Bandas na mesma altura do alvo genético do controle Positivo (CP) (gene *LipL32*) foram consideradas positivas (\*). KB = Peso molecular 1Kb DNA Ladder (Invitrogen, Life Technologies, São Paulo, Brasil); CN = Controle negativo da reação.**



**Figura 2 – Árvore filogenética (*Maximum likelihood tree*) obtida pelo sequenciamento parcial do gene *secY*. Os quadrados pretos identificam as amostras de *L. interrogans* descritas no estudo.**





Ciências agrárias

**PERFIL E FATORES DE ADERÊNCIA DE *Escherichia coli* ENTEROPATOGÊNICA ATÍPICA (aEPEC) POTENCIALMENTE ZONÓTICAS ISOLADAS DE CANINOS E BOVINOS NO RIO DE JANEIRO.**

**Mariane Senna Rangel; Leandro Corrêa Simões; André Victor Barbosa; Aloysio M. F. Cerqueira**

**MIP/Instituto Biomédico/Laboratório de Enteropatógenos, Microbiologia de alimentos e Veterinária**

**INTRODUÇÃO:**

O patotipo intestinal EPEC (*E. coli* enteropatogênica) foi o primeiro associado a quadros de diarreia e segue sendo uma causa significativa de morbidade e mortalidade em crianças com menos de dois anos de idade principalmente em países em desenvolvimento.

EPEC inclui cepas de *E. coli* capazes de causar diarreia, produzir a lesão do tipo “attaching/effacing”(A/E) e não produzir as toxinas Shiga. A capacidade de EPEC para formar lesões do tipo A/E é determinada por uma ilha de patogenicidade genômica denominada “locus of enterocyte effacement” (LEE).

Dentro deste patotipo reconhece-se uma divisão entre cepas típicas (tEPEC) e atípicas (aEPEC) que diferem pela presença nas primeiras de um plasmídeo

associado à aderência (pEAF) e codificador de uma fímbria tipo IV ((Bfp).

Além disso, as cepas aEPEC apresentam fatores de virulência adicionais, uma relação mais direta com o patotipo STEC (*E. coli* produtora de toxina Shiga) e reservatórios animais.

A crescente importância de aEPEC como agente de diarreia humana e sua presença já caracterizada em diferentes espécies animais tem suscitado diversos estudos que visam o esclarecimento do seu potencial virulento e zoonótico.

O presente trabalho teve como objetivo geral a avaliação fenotípica e genotípica, qualitativa e quantitativa, da interação de amostras aEPEC de origem canina e bovina com superfícies bióticas e abióticas.

**METODOLOGIA:**

Foram estudadas 13 amostras aEPEC apresentando 7 sorotipos distintos, sendo 9 de bovinos e 4 de cães, parcialmente caracterizadas em estudos anteriores em nosso laboratório. A expressão de fímbria tipo 1 foi examinada pela capacidade de aglutinação de células de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) ricas em manana em lâminas de vidro. A expressão de fímbrias curli foi avaliada pelo aspecto do crescimento em agar nutritivo acrescido de Vermelho Congo e Azul de Comassie. A evidência da produção de celulose foi obtida pelo crescimento e observação de colônias fluorescentes sob luz

ultravioleta em ágar LB sem sal, acrescido de calcofluor.

A aderência e formação de película em vidro foi investigada pelo crescimento em caldo LB sem sal.

A aderência quantitativa a superfície abiótica (poliestireno) e biótica (células Hep-2 fixadas) foi analisada em até 18 dias.

A aderência qualitativa a células Hep-2 foi avaliada em ensaio de 6 horas de interação.

Doze fatores associados a aderência e formação de biofilme, foram investigados geneticamente por PCR.

### **Resultados e discussão:**

Nove amostras revelaram expressão de fímbria tipo 1, aglutinando leveduras entre 20 e 60 segundos. No entanto, somente uma amostra foi negativa para o gene fimH através do PCR. Na expressão de curli, somente uma amostra teve resultado negativo. Dez amostras foram positivas para o gene *agn43*. A produção de celulose. Todas as amostras aEPEC aderiram a vidro sendo nove formadoras de películas moderadas ou fortes. foi detectada em todas as amostras.

A maioria das amostras apresentou genes associados a adesinas comuns a *E. coli*. Fatores associados à aderência e descritos também em STEC foram detectados, ainda que em menor frequência.

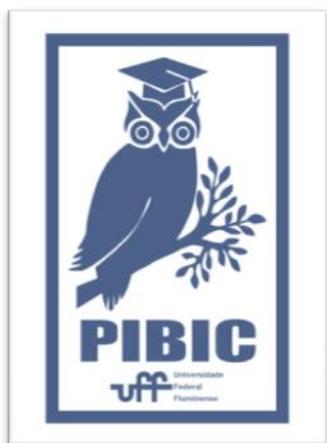
A avaliação quantitativa de aderência, revelou-se mais intensa em superfícies bióticas (células Hep-2 fixadas) até o 6o. dia de avaliação, porém a aderência a superfícies abióticas (poliestireno) se mostrou mais intensa a partir do 12o. dia.

A avaliação qualitativa demonstrou perfis variados, destacando-se o padrão semelhante ao localizado (LAL) em três amostras e difuso / agregativo simultâneo (AD/AA) em cinco amostras.

**Conclusão:** O conjunto dos dados obtidos demonstra a habilidade adesiva das amostras aEPEC estudadas, compartilhando fatores também descritos em STEC e contribui para um melhor entendimento de seus mecanismos de interação com o hospedeiro e o ambiente.

### **Agradecimentos:**

CNPq e Faperj





## **Ciências Agrárias**

### **ANÁLISE DE GASES E CONSUMO HORÁRIO DE BODIESEIS ORIUNDOS DE MISTURAS DE ÓLEOS VEGETAIS**

**Bolsista: Ricardo Cromack de Barros Correia**

**Orientador: Flávio Castro da Silva**

#### **INTRODUÇÃO:**

O presente trabalho buscou analisar as diferenças entre as características físicas e o rendimento de produção de biodieseis provenientes das misturas de biodieseis com o diesel puro. Foram utilizados os óleos de soja e de algodão como matérias primas para a produção do biodiesel unitário proveniente de cada óleo, além da produção dos biocombustíveis a partir da mistura binária dos óleos antes do processo de transesterificação e da mistura dos biodieseis unitários após o mesmo processo. Cada biocombustível produzido foi misturado com o diesel S10 em proporções de B8, B10, B20 e B30 gerando um total de 16 amostras de biodieseis que foram produzidos através de rota metílica, com o hidróxido de sódio (NaOH), servindo de catalizador da reação, juntamente com o agitador magnético em funcionamento por 45 minutos, durante o processo de transesterificação. Esta produção foi realizada em proporções de 6 mols de álcool metílico para 1 mol de óleo vegetal e 1% V/V para o NaOH. Analisando os dados obtidos foi possível identificar que o biodiesel gerado a partir da mistura dos óleos de soja e algodão antes do processo de transesterificação apresentou o maior rendimento se comparado aos demais, correspondente a 65,49%. Além disso, os valores de massa específica a 20°C e viscosidade cinemática a 40°C de todas as misturas produzidas estavam em conformidade com a Resolução nº 30 de 24 de junho de 2016 da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP).

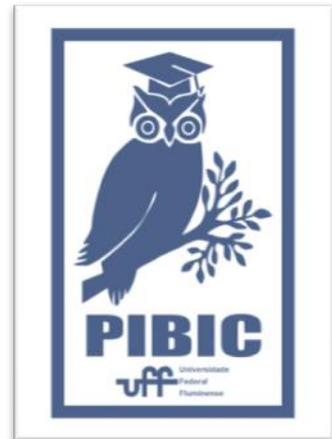
**Palavras-chave:** Biocombustível. Biomassa. Energia Renovável. Eficiência de produção. Misturas de biodiesel.

#### **ABSTRACT:**

The current study had the objective to analyze the differences between the physical characteristics and the production yield of biodiesel from biodiesel blends with pure diesel. Soy and cotton oils were used as raw materials for the production of unit biodiesel from each oil, in addition to the production of biofuels from the binary mixture of the oils before the transesterification process and the mixing of the unit biodiesel after the same process. Each biofuel produced was mixed with the S10 diesel in proportions of B8, B10, B20 and B30 generating a total of 16 samples of biodiesel that were elaborated through a methyl route with sodium hydroxide (NaOH), serving as reaction catalyst, together with the magnetic stirrer in operation for 45 minutes, during the transesterification process. This production was carried out in proportions of 6 mols of methyl alcohol to 1 mol of vegetable oil and 1% V / V to NaOH. Analyzing the data obtained, it was possible to identify that the biodiesel generated from the mixture of soybean and cotton oils before the transesterification process presented the highest yield when compared to the others, corresponding to 65.49%. In addition, the specific mass values at 20°C and kinematic viscosity at 40°C of all blends produced were in accordance

with Resolution no. 30 of June 24, 2016  
of the National Agency of Petroleum,  
Natural Gas and Biofuels (ANP).

Keywords: Biofuel. Biomass.  
Renewable Energy. Production  
Efficiency. Biodiesel Blends.





**Grande Área: Ciências Agrárias**

**AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE HORTELÃ E LARANJA-DOCE COMO ALTERNATIVA SUSTENTÁVEL NO CONTROLE DE FUNGOS QUE ACOMETEM GRÃOS ARMAZENADOS.**

**Rodrigo Valente Costa<sup>1</sup>; Ana Paula Martinazzo<sup>2</sup>; Carlos Eduardo de Souza Teodoro<sup>2</sup>.**

**Engenharia de Agronegócios – VEA – EEIMVR - UFF - <sup>1</sup>Bolsista/ <sup>2</sup>Docente**

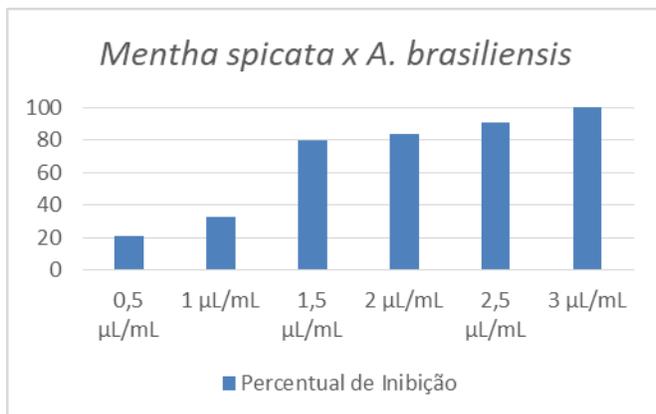
**INTRODUÇÃO:** Os grãos, além de fazerem parte da alimentação humana, são também fontes alimentares para a criação de diversos animais. A produção de grãos se vê ameaçada pelo ataque de pragas e doenças, as quais podem ocorrer na fase de pré-colheita ou pós-colheita. E é na fase de pós-colheita que a maior atenção deve ser dada, pois são os elos da cadeia produtiva que estão mais próximos ao consumidor. Insetos e outras pragas podem acometer o produto, reduzindo sua qualidade, podendo até ser nocivo ao consumidor em alguns casos. Os fungos são os responsáveis pela maioria da contaminação e deterioração encontrada em alimentos. Várias espécies de fungos podem produzir substâncias tóxicas, denominadas micotoxinas, que podem causar danos severos aos consumidores dos alimentos nas quais estão presentes, sejam humanos ou animais. Existem métodos que visam inibir o crescimento fúngico e evitar a contaminação dos grãos. O objetivo do trabalho é de propor a utilização do óleo essencial de laranja e hortelã (*Mentha spicata* L.), no controle de fungos que acometem os grãos de milho durante seu armazenamento. Na crescente busca pela utilização de produtos naturais, o óleo surgiria

como alternativa aos fungicidas sintéticos (agrotóxicos), amplamente utilizados.

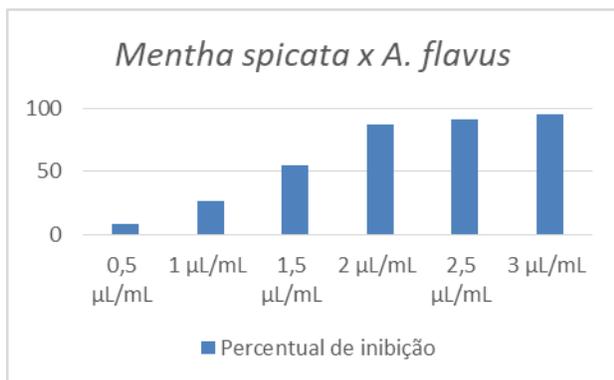
### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

A eficácia do óleo essencial de *Mentha spicata* na inibição do fungo foi decrescendo ao longo do período de incubação. Para o controle do fungo *A. brasiliensis*, até o quinto dia de incubação, houve máxima inibição para todas as dosagens estatisticamente, à exceção da dosagem 0,5 µL/mL. As dosagens de 2,5 e 3,0 µL/mL mostraram eficácia no controle do fungo até o último dia. A dosagem 1,0 µL/mL demonstrou alta eficiência até o quarto dia, enquanto que a dosagem 1,5 µL/mL foi altamente eficaz até o oitavo dia. No gráfico podemos ver os níveis de inibição observados no último dia de

experimento.



Já para o *A. flavus*, até o segundo dia observa-se que todas as dosagens, à exceção de 0,5 µL/mL, apresentaram 100% de eficácia, o que pode ser proveitoso, pensando no produto final, para períodos curtos de armazenamento. De acordo com a análise estatística realizada, a um nível de 5% de significância, as dosagens 2,0; 2,5 e 3,0 µL/mL demonstraram estatisticamente eficácia ao longo dos dias de análise. Já a dosagem 1,5 µL/mL não apresentou crescimento fúngico até o quinto dia, mantendo sua eficácia até o oitavo dia. No gráfico podemos ver os níveis de inibição observados no último dia de experimento.



A dosagem de 2,5 µL/mL se mostrou eficaz tanto para o controle do *A. flavus* quanto para o *A. brasiliensis* até o último dia do

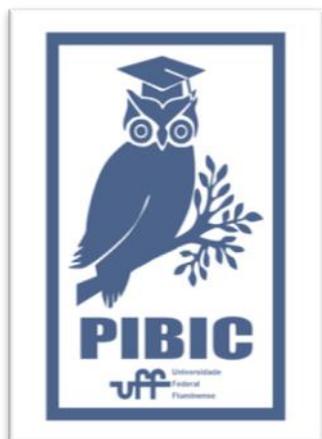
experimento. Para o óleo essencial de *C. aurantium*, a máxima dosagem testada (10 µL/mL), alcançou apenas 21% de inibição do *A. brasiliensis* e 40% do *A. flavus*, no fim do período de incubação. Para os objetivos almejados nesse trabalho, o óleo essencial não se mostrou eficiente para o controle das espécies fúngicas em estudo.

## CONCLUSÕES:

O óleo de *Mentha* se mostrou eficiente, conseguindo obter 100% de inibição em algumas dosagens até o último dia do experimento, o que mostra que é uma tecnologia que vale a pena investir. A aplicação de óleos essenciais se desponta como uma tecnologia ambiental promissora no controle de pragas e doenças na pós-colheita de grãos, podendo substituir os fungicidas sintéticos. No entanto, *a priori*, os custos da efetiva aplicação dos mesmos no produto pode ser um pouco onerosa, dada a pequena escala de produção dos óleos essenciais, e elevado preço de mercado, se comparado a tecnologias já consolidadas para a mesma finalidade. Faz-se necessários investimentos na indústria de óleos essenciais, de modo a garantir economias de escalas, barateando os custos e tornando essa tecnologia mais acessível.

## **AGRADECIMENTOS:**

Agradeço primeiramente à Professora Doutora Ana Paula Martinazzo. Agradeço também ao Pibic/CNPq e à UFF pela oportunidade gerada com a bolsa cedida.





## CIÊNCIAS AGRÁRIAS

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

**Autores:** SILVA, N.S.L.; LUZES, B. S.; 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:

A neoplasia mamária é a mais frequente em cadelas, representando cerca de 50 a 70% de todas as neoplasias, acometendo principalmente fêmeas caninas entre 7 e 12 anos (De Nardi et al., 2016). Acredita-se que 35 a 50% dos tumores mamários caninos sejam malignos, podendo se disseminar para outros órgãos, levando ao surgimento de metástases. (Fossum, 1997).

Os fatores genéticos, alimentares e do meio ambiente, variações hormonais, como a gestação e a lactação, os distúrbios do ciclo estral, cistos ovarianos foliculares, hiperplasia endometrial, a esterilização e a contracepção estão relacionados ao risco e proteção do aparecimento de lesões neoplásicas no tecido mamário (Moulton, 1990). Os hormônios esteróides responsáveis pela carcinogênese podem ser exógenos, como na administração de contraceptivos, ou endógenos, podendo ser oriundos das enfermidades reprodutivas como exemplo os tumores de células da granulosa que podem produzir estrogênio e/ou progesterona (Johnston, 1998). O risco de desenvolvimento de neoplasias mamárias em cadelas castradas antes do primeiro ciclo estral é de 0,05%, após o primeiro estro sobe para 8%, e é de aproximadamente 26% quando a castração ocorre após o segundo estro (De Nardi et al., 2016).

Obtendo-se um panorama mais aprofundado da dependência hormonal nas neoplasias mamárias, permite-se investir numa maior prevenção desta enfermidade por meio do diagnóstico precoce de distúrbios hormonais com o uso de avaliação endocrinológica das fêmeas, dosando-se estrogênio e progesterona;

exames ultra-sonográficos; e a colpocitologia, que permite determinar de forma indireta a função folicular ovariana e diversas enfermidades, como ciclos reprodutivos anormais, problemas de infertilidade e infecciosos, vaginites, neoplasias (Feldman e Nelson, 1996).

#### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram selecionadas ao estudo, 89 cadelas portadoras de neoplasia mamária.

O estudo envolveu cadelas de raça e sem raça definida (SRD) a maior frequência foi de animais SRD com 27 (30,33%) fêmeas e de Poodles com 21 (23,59%) indivíduos. O número elevado de animais SRD atribui-se ao fato do estudo ter sido realizado no HUVET, onde a maioria dos animais atendidos é sem raça definida.

A idade das cadelas variou de 3 a 16 anos, sendo duas (2,02%) com idade entre 0 e 4 anos, 57 (64,04%) com idade entre 5 e 10 anos, e 30 (33,70%) 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.

Dos 89 animais avaliados 77,52% (69) dos animais nunca sofreram administração de anticoncepcional, 5,61% (5) sofreram administração pelo menos uma vez, e 16,85% (15) não tinham informações sobre.

Oliveira et al, 2010 estimam que no Brasil a incidência de tumores malignos sejam superior a 70%. No presente estudo 2,24% (2) dos animais tiveram lesões não neoplásicas, 4,49% (4) dos animais tiveram lesões neoplásicas benignas e 93,25% (83) dos animais tiveram alterações neoplásicas malignas. Dentre as neoplasias malignas mais frequentes, o

carcinoma em tumor misto apresentou maior incidência, com 61,44% (51), seguido do carcinoma papilar com 13,25% (11), carcinosarcoma com 7,22% (6), carcinoma sólido com 6,02% (5) e carcinoma tubular com 6,02% (5), os achados corroboram com Cassali et al, 2014 que consideram o carcinoma em tumor misto o mais frequente em cadelas.

Neste estudo, foi possível observar 97,75% (87) das cadelas com alterações uterinas e ovarianas.

As alterações uterinas foram observadas em 84,26% (75) das cadelas. A hiperplasia endometrial cística foi a alteração uterina mais frequente, com 55,05% (49) dos animais, seguido da hiperplasia endometrial com 21,34% (19), adenomiose com 5,61% (5), leiomioma com 5,61% (5), cistos endometriais com 4,49% (4), hidrometra com 3,37% (3), mucometra com 3,37% (3) e piometra com 2,24% (2). Não foram observadas neoplasias malignas uterinas.

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.

As alterações ovarianas estiveram presentes em 87,64% (78). Detectou-se 75,28% (67) de cistos, 43,82% (39) de hiperplasias e 38,20% (34) de neoplasias. Dentre os cistos mais frequentes, 50,74% cistos de estruturas subepiteliais, 25,37% cistos de ductos e túbulos mesonéfricos e 20,89% cistos foliculares. Dentre as hiperplasias, 74,35% foi hiperplasia em rede ovariana, 17,94% hiperplasia cística em rede ovariana e 7,69% hiperplasia de células da granulosa. Dentre as neoplasias, 91,17% tumor de células da granulosa e 8,82% disgerminoma. Não foram observadas neoplasias malignas de ovários.

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.

Todas as cadelas que sofreram administração de anticoncepcionais apresentaram neoplasias malignas, em contradição com Giles et al, 1978 e Oliveira et

al, 2010, que retratam maior associação com tumores benignos.

O alto índice de alterações uterinas e ovarianas em cadelas portadoras de neoplasia mamária indica a realização da ovariossalpingohisterectomia associada a mastectomia, com o intuito de tratamento das afecções e como prevenção, visto que hiperplasias endometriais císticas podem progredir a piometra.

## CONCLUSÕES:

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

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:

- CASSALI, G. D.; LAVALLE, G. E.; FERREIRA, E. et al. Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors – 2013. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, v. 7, n. 2, p. 38-69, 2014.
- DALECK, C. R.; DE NARDI A.B. *Oncologia em Cães e Gatos*. 2 ed. Rio de Janeiro: ROCA. 2016. p.726-755.
- FOSSUM, T. W. et al. *Small Animal Surgery*. Texas: Mosby, 1335 p., 1997.
- GILES, A.A., KWAPIEN, R.P., GEIL, R.G., et al. Mammary nodules in beagle dogs administered investigational oral contraceptive steroids. *Journal of the National Cancer Institute*, v.60, n.6, p.1351, 1978.
- 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.
- MOULTON, J. E. Tumors of the mammary gland. In: MOULTON, J. E. *Tumors in Domestic Animal*. 3 ed., Berkeley: University of California press, 1990, p. 518-552.
- OLIVEIRA, P.C.; LOPES, M.D.; THOMÉ, H.E.; BALIEIRO, J. C.C. Avaliação citológica, histológica e hormonal de cadelas normais com complexo hiperplasia endometrial cística / piometra.
- OLIVEIRA, J.C.O., KOMMERS G.D., MASURA 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.
- Veterinária e Zootecnia*, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 150-159, 2008.





## **Ciências Agrárias / Medicina Veterinária**

### **Uso do segundo implante de progesterona na ressincronização do estro em ovelha não interfere na síntese de progesterona**

**Ana Beatriz da Silva Carvalho, Juliana Dantas Rodrigues Santos, Mário Felipe Alvarez Balaro, Eduardo Kenjii Nunes Arashiro, Isabel Oliveira Cosentino, Felipe Zandonadi Brandão**

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

#### **INTRODUÇÃO:**

Existem diversas estratégias e tecnologias para intensificar os sistemas de produção animal, dentre elas estão àquelas associadas à Reprodução Animal. A utilização de hormônios (naturais ou sintéticos) para controlar o ciclo estral dos animais domésticos compõe esta caixa de ferramentas tecnológicas para aumentar a eficiência produtiva dos sistemas de produção. Especificamente em pequenos ruminantes, espécies com reprodução estacional, os protocolos hormonais de indução do estro permitem a reprodução destes animais fora da estação reprodutiva, aumentando a rentabilidade do sistema de criação.

Alguns protocolos hormonais foram desenvolvidos para eliminar a necessidade da detecção do estro, permitindo que a inseminação seja feita em um momento pré-determinado, a chamada inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Uma das estratégias que se pode adotar com o uso dessa técnica é a realização da ressincronização, ou seja, aquelas fêmeas que não ficarem gestantes após o primeiro protocolo de IATF são submetidas a um segundo protocolo, que para otimizar, geralmente é iniciado antes mesmo do diagnóstico de gestação. Em bovinos, geralmente o protocolo de ressincronização é iniciado 22 dias após a IATF para que o momento do diagnóstico da gestação por ultrassonografia em Modo-B (30 dias após a IATF) seja coincidente com o final do segundo protocolo da IATF. Assim, aquelas fêmeas diagnosticadas como vazias podem ser submetidas a uma nova IATF dois dias depois (Freitas et al., 2007; Almeida et al., 2015).

Desde o início da década de 2000, estudos estão sendo realizados avaliando o potencial de

aplicação da ultrassonografia com Doppler colorido na Reprodução Animal (Miyamoto et al., 2006). E uma destas aplicações envolve a avaliação da funcionalidade do corpo lúteo. Foi demonstrado que a área de vascularização luteal diminuiu significativamente 24-48hs após o início da luteólise (Acosta et al., 2002, Figueira et al., 2015). Desta maneira, em vez de realizar o diagnóstico de gestação com 30 dias após a IATF avaliando o útero com ultrassonografia em modo-B, abre-se a possibilidade de realizar este diagnóstico de forma mais precoce avaliando o ovário com ultrassonografia associada ao Doppler colorido. Em bovinos, a avaliação da vascularização luteal teve uma sensibilidade de 98,5% para detecção de animais vazios 20 dias após a IATF (Siqueira et al., 2013). Um estudo preliminar do nosso grupo em ovinos mostrou um resultado semelhante, onde a sensibilidade para detecção de animais vazios 17 dias após a inseminação foi de 85,7% (Arashiro et al., 2018).

Assim sendo, é possível que em um programa de IATF em ovinos as fêmeas sejam inseminadas a cada 21 dias. Para isso, o protocolo de ressincronização deve ser iniciado no meio da fase luteal, antes mesmo do momento esperado da luteólise natural. Contudo, os efeitos deste segundo protocolo hormonal sobre a atividade do CL precisam ser estudados. Dentro deste contexto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver e avaliar a eficiência de um protocolo precoce de ressincronização do estro em ovinos associado a um método de diagnóstico precoce da gestação com base na avaliação da vascularização luteal por meio da ultrassonografia com Doppler colorido.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O referido projeto foi aprovado pelo o Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense, recebendo o número de protocolo 923/2017 e foi realizado conforme as normas da Sociedade Brasileira de Animais de Laboratório.

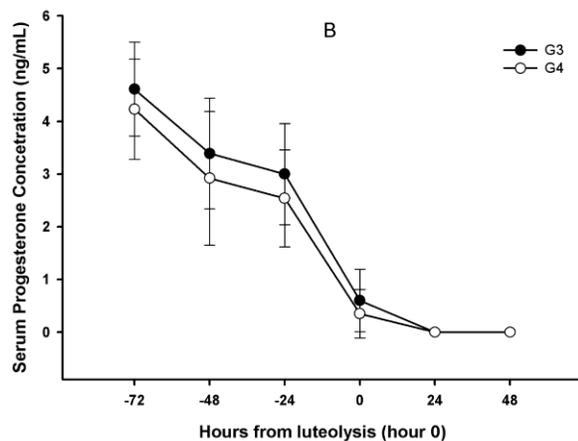
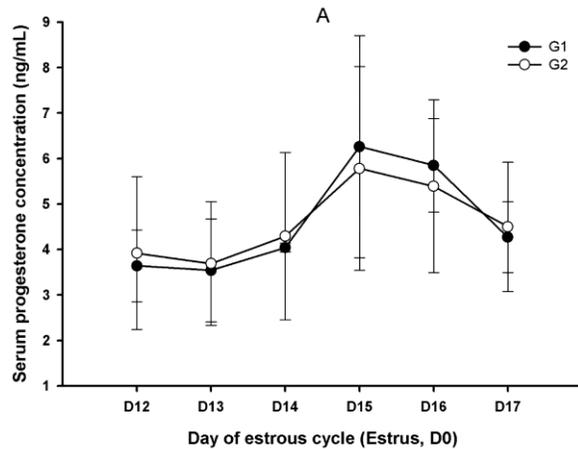
Este estudo foi realizado no Setor de Caprino e Ovinocultura e na Unidade de Pesquisa Experimental em Caprinos e Ovinos (UniPECO) localizados na Fazenda Escola da Faculdade de Veterinária no município de Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brasil. Foram utilizadas ovelhas da raça Santa Inês. O sistema de produção utilizado foi o confinamento parcial, onde parte do dia os animais ficaram soltos em pastos cultivados, sendo recolhidos ao aprisco no final do dia, momento o qual foi fornecido volumoso e concentrado. Água e sal mineral foram ofertados ad libitum. 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 e receptoras. Apenas machos e fêmeas em perfeito estado de saúde foram utilizados.

O estro foi sincronizado em ovelhas pluríparas da raça Santa Inês (n=30) utilizando um protocolo de sincronização curto previamente descrito e utilizado pelo nosso grupo. Brevemente, este protocolo consistiu na inserção de uma esponja intravaginal contendo 60mg de MAP, 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 acetado de gonadorelina. Posteriormente (56 horas após a retirada da esponja), parte dos animais foram submetidos ao processo de inseminação artificial laparoscópica (Dia 0, D0) seguindo a técnica previamente utilizada por nosso grupo (Teixeira et al., 2016). Resumidamente, antes do procedimento de IA os animais foram submetidos a jejum alimentar e hídrico de 24 e 12 horas, respectivamente. Momentos antes do procedimento de IA os animais foram tricotomizados e anestesiados com acepromazina (0,05 mg/Kg i.v.), diazepam (0.2

mg/Kg i.v.) e morfina (0,3 mg/Kg i.v). Após este protocolo anestésico, os animais foram colocados em macas próprias para realização da IA e a região tricotomizada foi limpa com solução de clorexidina. Em seguida, três botões anestésicos subcutâneos com cloridrato de lidocaína 2% foram realizados nos locais de inserção dos trocateres. Então, os animais foram colocados em posição de Tredelemburg e a inseminação foi realizada por meio da injeção do sêmen na base dos dois cornos uterinos. Após o procedimento de IA foi realizada a aplicação tópica (nos locais de inserção dos trocateres) de spray repelente/cicatrizante a base de sulfadiazina prata, alumínio, diclorvos e cipermetrina.

No D12, uma segunda esponja intravaginal foi inserida e mantida por 5 dias (até o D17). Exames ultrassonográficos por via transretal (Modo-B e Doppler colorido) foram realizados a cada 24 horas entre o D10 e D20. Nestes exames foram avaliados os parâmetros morfométricos (diâmetro e área de tecido luteal) e vasculares (escore de 1 a 4 de acordo com Arashiro et al., 2018) do CL. No D30 foi realizado um novo exame ultrassonográfico (Modo-B) para realização do diagnóstico de gestação. Entre o D10 e D20, imediatamente após o exame ultrassonográfico, foram coletadas amostras de sangue para dosagem das concentrações circulantes de progesterona. A coleta de sangue foi realizada por meio da venopunção jugular utilizando sistema de coleta de sangue a vácuo. Esse experimento pretendeu comparar a dinâmica luteal (funcional) entre os animais gestantes e não gestantes, e verificar se dentro do grupo de animais diagnosticados como não gestantes, o processo de luteólise ocorreu fora do momento esperado, indicando um possível efeito deletério do tratamento com MAP entre o D12 e D17 sobre a funcionalidade do CL.

Do D12 ao D17, as concentrações plasmáticas de progesterona não diferiram entre os animais gestantes que utilizaram ou não o segundo implante de progesterona (G1 e G2, respectivamente; Fig.1 A). Nas fêmeas não gestantes, o momento da ocorrência da luteólise não diferiu entre os grupos (dia  $14,58 \pm 1,11$  e  $14,64 \pm 0,88$  para G3 e G4, respectivamente), e as concentrações de progesterona próximas à o ocorrência da luteólise não diferiram (Fig.1, B).



## CONCLUSÕES:

Concluiu-se que utilização de uma segunda esponja de progesterona não altera a síntese da progesterona pelo corpo lúteo responsável pela a manutenção da gestação.

## AGRADECIMENTOS:

Agradecemos ao 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. Agradeço também ao meu orientador Prof<sup>o</sup> Felipe Zandonadi Brandão, por todo comprometimento e zelo com este e outros projetos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, M.R.; Silva, E.P.; Borges, J.B.S.; Machado, A.B.; Gambin, L.S.; Baumbach, L.; Dias, M.M.; Velho, F.A. Efeito da aplicação de benzoato de estradiol ou da gonadotrofina coriônica humana em protocolos de ressincronização da ovulação sobre a prenhez da IATF. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.43 (1334), p.1-6, 2015.

Arashiro, E.K.N.; Ungerfeld, R.; Clariget, R.P.; Pinto, P.H.N.; Balaro, M.F.A.; Bragança, G.M.; Ribeiro, L.S.; Fonseca, J.F.; Brandão, F.Z. Early pregnancy diagnosis in ewes by subjective assessment of luteal vascularisation using colour Doppler ultrasonography. *Theriogenology*. v.106, p.247e252, 2018.

Cosentino, I.O.; Balaro, M.F.A.; Leal, F.S.C.; Carvalho, A.B.S.; Souza, P.R.C.; Arashiro, E.K.N.; Brandão, F.Z. Accuracy of assessment of luteal morphology and luteal blood flow for prediction of early pregnancy in goats. *Theriogenology*. v.121, p.104-111, 2018.

Bragança, G.M.; Balaro, M.F.A.; Fonseca, J.F.; Pinto, P.H.N.; Rosa, R.M.; Ribeiro, L.S.; Almeida, M.S.; Souza-Fabjan, J.M.G.; Garcia, A.R.; Brandão, F.Z. Ultrassonografia Doppler no diagnóstico precoce da gestação em ovinos. In: XXX Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society, 2016, Foz do Iguaçu. Anais da XXX Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society, p.292, 2016.

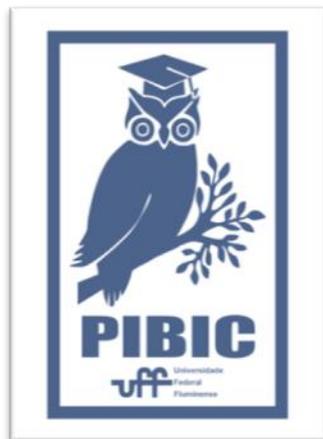
Figueira, L.M.; Fonseca, J.F.; Arashiro, E.K.N.; Souza-Fabjan, J.M.G.; Ribeiro, A.C.M.; Oba, E.; Viana, J.H.M.; Brandão, F.Z. Colour Doppler ultrasonography as a tool to assess luteal function in Santa Ines ewes. *Reprod Dom Anim*, v.50(4), p.643-650, 2015.

Freitas, D.S.; Chalhoub, M.; Almeida, A.K.C.; Silva, A.A.B.; Santana, R.C.M.; Ribeiro Filho, A.L. associação do diagnóstico precoce da prenhez a um protocolo de ressincronização do estro em vacas zebuínas. *Ver Bras Saúde Prod*, V.8(3), p.170-177, 2007.

Miyamoto, A.; Shirasuna, K.; Hayashi, K.; Kamada, D.; Kawashima, C.; Kaneko, E.; Acosta, T.J.; Matsui, M. a potential use of color ultrasound as a tool for reproductive management: new observations using color ultrasound scanning that were not possible with

imaging only in black and white. J. Reprod Dev, v.52 (1), p.153-160, 2006.

Teixeira, T.A.; Fonseca, J.F.; Souza-Fabjan, J.M.G.; Carnevali, L.R.; Fernandes, D.A.M.; Brandão, F.Z. Efficiency of different hormonal treatments for estrus synchronization in tropical Santa Ines sheep. Trop Anim Health Prod, v.48 (3), p.545-551, 2016.





## Ciências Agrárias

### Avaliação preliminar da variação da concentração do Ácido Etilenodiaminotetracético (EDTA) em amostras sanguíneas de gatos com doença renal

Marthiellen Roosevelt de Lima Felix, Gabrielly Ferreira Santos, Juliet Cunha Bax, Renata Barbosa Faria, Hanna Lavagnole

Nascimento, Nilceia de Veiga Ramos, Aline Moreira de Souza

Departamento de Patologia e Clínica Veterinária / Faculdade de Veterinária / LABHUVET

#### INTRODUÇÃO:

O hemograma permite a análise de informações quantitativas e qualitativas das células sanguíneas de mamíferos. Estas informações são utilizadas para avaliar o sistema sanguíneo quanto resposta a doenças ou distúrbios hematológicos (STOCKHAM & SCOTT, 2011a). O EDTA é o anticoagulante de escolha para o hemograma, mas promove modificações na morfologia das células, principalmente devido a demora no processamento da amostra, a temperatura de armazenamento e ao excesso de anticoagulante na amostra (MEDAILLE *et al.*, 2006; PATEL *et al.*, 2009; ANTWI-BAFFOUR *et al.*, 2013). Muitas vezes a coleta de sangue em felinos é dificultada pelo temperamento do animal. Além disso, o pequeno calibre do vaso sanguíneo faz com que o sangue saia mais lentamente. Este fato resulta em amostras sanguíneas que não se apresentam dentro dos padrões estabelecidos por coleta de volume inferior ao indicado ou por presença de microcoágulos nas amostras. Em concentrações elevadas, o EDTA pode causar crenação das hemácias devido a hipertonicidade do plasma. O excesso do EDTA também causa danos aos leucócitos, gerando vacuolização citoplasmática a partir de três horas após coleta em monócitos e uma hora após coleta em neutrófilos (PATEL, 2009). Segundo Gonzáles e Silva (2003) as hemácias apresentam aumento da suscetibilidade à lise após 24 horas em contato com EDTA. Em humanos, apesar de vasta literatura recomendar a rejeição de amostras preenchidas acima ou abaixo do volume indicado no tubo, estudos demonstraram que amostras preenchidas abaixo do volume recomendado em tubos com K2 EDTA não alteraram significativamente os parâmetros hematológicos de doadores de sangue sadios (XU *et al.*, 2010 e GUPTA, 2014).

Pacientes com doença renal, devido à azotemia e à síntese de citocinas inflamatórias, além da diminuição da eritropoietina, apresentam diminuição do tempo de vida e disfunções nas células sanguíneas (WAKI *et al.*, 2010, STOCKHAM & SCOTT, 2011b). O objetivo deste estudo foi avaliar as alterações observadas nos parâmetros hematológicos e na morfologia das células sanguíneas em amostras de felinos com doença renal, acondicionadas em diferentes concentrações de EDTA.

#### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O presente estudo foi realizado no Hospital Universitário de Medicina Veterinária Professor Firmino Mársico Filho (HUVET), da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense no período de março a agosto de 2018. Foram avaliados os resultados do hemograma de felinos, sendo cinco pacientes com doença renal (segundo avaliação da creatinina, pressão arterial, e relação proteína-creatinina urinária) e cinco pacientes sem sinais clínicos de doença, utilizados como controle. Os tutores consentiram na participação neste estudo. As amostras de sangue foram coletadas em um único momento, após contenção física dos animais e venopunção jugular ou cefálica. O volume de sangue obtido foi distribuído em três tubos a vácuo com K2 EDTA com capacidade para 0,5 mL de sangue, conforme ordem a seguir: tubo A – 0,5 mL (1,8 mg/mL) de sangue; B – 0,25 mL (3,6 mg/mL) de sangue; C – 0,125 mL (7,2 mg/mL) de sangue, de acordo com marcações realizadas na etiqueta do tubo. Os tubos de coleta utilizados foram da mesma marca e lote, para evitar variações inerentes ao tubo. Após a coleta, as amostras sanguíneas

foram processadas em até 30 minutos e analisadas em contador hematológico (Sysmex modelo Poch 100lv). A hematoscopia foi realizada em objetiva de imersão na microscopia óptica em esfregaços sanguíneos corados com corante instantâneo (Panótico rápido). Os resultados apresentados a seguir foram obtidos com a média e desvio padrão referentes aos grupos A (amostras com 1,8 mg de EDTA/mL de sangue), B (amostras com 3,6 mg de EDTA/mL de sangue) e C (amostras com 7,2 mg de EDTA/mL de sangue) do grupo controle e de doentes renais. Os valores do hematócrito do controle foram de 42% ( $\pm 4,58$ ) para o grupo A; de 40,6% ( $\pm 4,51$ ) para o grupo B e de 38,4% ( $\pm 4,98$ ) para o grupo C. No grupo de felinos doentes renais, os valores foram de 31,2% ( $\pm 4,82$ ); 30,2% ( $\pm 3,63$ ) e 29,8% ( $\pm 3,63$ ) respectivamente. É possível observar que os pacientes com doença renal apresentavam valores de hematócrito mais baixos que o grupo de animais sem alterações clínicas, embora ainda dentro dos valores de referência, possivelmente ligado a falha na eritropoiese ou diminuição da meia vida das células. Entretanto, a variação observada entre os resultados dos hematócritos dos grupos A, B e C em animais doentes e sem alterações clínicas foi discreta, apesar de haver diminuição dos valores a medida que se aumentava a concentração de EDTA na amostra. Os valores de leucometria global nos felinos do grupo controle foram 12.260/ $\mu\text{L}$  ( $\pm 6.624$ ); 11.000/ $\mu\text{L}$  ( $\pm 4.801$ ) e 11.800/ $\mu\text{L}$  ( $\pm 6.362$ ) para os grupos A, B e C respectivamente. A leucometria nos doentes renais para o grupo A foi de 12.060/ $\mu\text{L}$  ( $\pm 6.108$ ), para o grupo B foi de 11.320/ $\mu\text{L}$  ( $\pm 6.144,67$ ) e por fim o grupo C foi de 11.380/ $\mu\text{L}$  ( $\pm 7.176,14$ ). De forma semelhante, alterações discretas foram observadas na leucometria global de todos os grupos entre animais doentes e sadios, e a leucometria global estava dentro dos valores de normalidade. Quanto aos resultados da plaquetometria nos animais sadios: 138.200 plaquetas/ $\mu\text{L}$  ( $\pm 113.087$ ) para o grupo A, 169.600 plaquetas/ $\mu\text{L}$  ( $\pm 124.452$ ) no grupo B e 121.800 ( $\pm 109.447$ ) plaquetas/ $\mu\text{L}$  no grupo C. Os doentes renais apresentaram plaquetometria de 128.000/ $\mu\text{L}$  ( $\pm 81.727$ ) no grupo A, 136.700/ $\mu\text{L}$  ( $\pm 63.369$ ) no grupo B e 123.650/ $\mu\text{L}$  ( $\pm 60.044$ ) no grupo C. Ressalta-se a presença de agregados plaquetários em todas as amostras processadas, 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 pequena variação entre os valores de hematócrito, leucometria global e plaquetometria em amostras de felinos com diferentes concentrações de EDTA, sadios e com doença renal. 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.

## Bibliografia

ANTWI-BAFFOUR, S.; QUAO, E.; KYEREMEH, R.; MAHMOOD, S.A. Prolong Storage of Blood in EDTA Has an Effect on the Morphology and Osmotic Fragility of Erythrocytes. **International Journal of Biomedical Science and Engineering**,  V. 1, n. 2, p. 20-23, 2013.

MEDAILLE, C. BRIEND-MARCHAL, A.; BRAUN, J.P. Stability of selected hematology variables in canine blood kept at room temperature in EDTA for 24 and 48 hours. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 35, n. 1, p. 18-23, 2006.

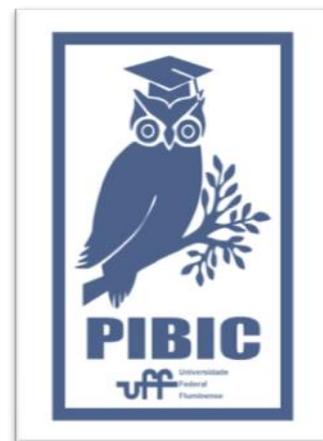
PATEL, N. Why is EDTA the anticoagulant of choice for hematology use? **Tech Talk**, v.7, n.1, 2009.

STOCKHAMS.L.; SCOTT, M. A. Leucócitos. In: **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 45-89, 2011a.

STOCKHAM S. L.; SCOTT, M. A. Eritrócitos. In: **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 90-185, 2011 b.

WAKI M.F.; MARTORELLIC.R.; MOSKO P.E.; KOGIKAM.M. Classificação em estágios da doença renal crônica em cães e gatos - abordagem clínica, laboratorial e terapêutica. **Ciencia Rural**, v.40, n.10, p. 2226-2234, 2010

Agradecimentos:





## Ciências Agrárias

### Efeito da UV-C combinada com a temperatura em *Escherichia coli* Shigatoxigênica e a indução de resistência ao ácido gástrico simulado

Ana Clara Cabral Paletta, Vinicius Silva Castro e Carlos Adam Conte Junior

Departamento de Tecnologia de Alimentos/Faculdade de Veterinária/Centro Laboratorial Analítico e Molecular

#### INTRODUÇÃO:

O consumo de carnes aumentou nos últimos 50 anos em todo o mundo, sendo estimado um acréscimo na ingestão de 19,1 kg per capita entre 1961 a 2011. Para garantir um produto alimentício é necessário que esteja com as propriedades físico-químicas e a qualidade microbiológicas de acordo com o consumo seguro do alimento. Para isso, diversos métodos para redução da comunidade bacteriana foram propostos a fim de garantir a segurança microbiológica ao consumidor. Além disso, mais recentemente, os estudos têm buscado técnicas que aumentam a validade comercial e a segurança microbiológica, sem afetar a característica sensorial do produto.

Sendo assim, podemos citar dois métodos recentes: o uso da luz ultravioleta, que possui ação direta no DNA bacteriano e a técnica de “*sous vide*” que consiste no cozimento sob temperaturas mais amenas (50 – 70°C). No entanto, apesar das técnicas apresentarem eficácia, o emprego de métodos mais brandos no controle microbiológico está sendo relacionado com o aumento da capacidade de resistência ao ambiente gástrico, devido a indução da expressão de diversos genes relacionados aos mecanismos de resistência celular.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência do uso da luz ultravioleta e da temperatura no aumento da resistência de cepas de *Escherichia coli* patogênicas no fluido gástrico simulado.

#### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram utilizadas duas cepas de *E. coli* STEC O26, uma cepa com fatores de

resistência intrínsecas (C1) e a outra cepa da coleção padrão ATCC 2196 (C2). As cepas foram submetidas a luz ultravioleta (300 mJ/cm<sup>2</sup>) e a temperatura (65° C). Posteriormente, as cepas foram submetidas a ação do ácido gástrico simulado durante 1 hora à 37°C. Os resultados foram comparados utilizando a ANOVA two-way e teste de média de Tukey ao nível de 0,05 de confiança.

Os resultados obtidos indicaram que os tratamentos não induziram a resistência das cepas no ácido gástrico simulado (Tabela 1). Entretanto, a cepa que possuía fatores de resistência (C1) obteve uma menor redução quando comparado a cepa padrão (C2).

**Tabela 1.** Teste de média (Tukey) entre os tratamentos e as cepas de *E. coli* STEC.

Tratamento	C	1	2	3	4	5	6
U+A (1)	1		0,0002	0,0002	0,0002	1,0000	0,0002
U+A (2)	2	0,0002		0,3778	0,0004	0,0002	0,9342
T+A (3)	1	0,0002	0,3778		0,0075	0,0002	0,0974
T+A (4)	2	0,0002	0,0004	0,0075		0,0002	0,0002
U+T+A (5)	1	1,0000	0,0002	0,0002	0,0002		0,0002
U+T+A (6)	2	0,0002	0,9342	0,0974	0,0002	0,0002	

**Legenda:** U – Ultravioleta; T – temperatura; A – Ácido Gástrico Simulado; C – cepas 1 e 2.

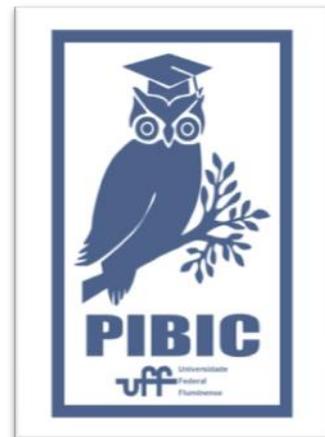
Outro ponto é que a luz UV-C obteve maior taxa de redução quando comparado a temperatura. Além disso, nas duas cepas a temperatura não teve diferença significativa na redução quando comparado ao combinado UV-C+Temperatura, isso indica que o tratamento por UV-C causa danos a estrutura da célula, causando um aumento da redução quando em contato com o ácido gástrico e diminuindo a chance da patogenia ao hospedeiro.

## **CONCLUSÕES:**

Os tratamentos testados não induziram a resistência ao ácido gástrico simulado. Além disso, a UV-C aumentou a sensibilidade das células e conseqüentemente a maior redução no ácido gástrico. As cepas obtiveram diferentes perfis de redução aos tratamentos.

## **Agradecimentos:**

Agradecimento especial a FAPERJ, ao CNPq e a CAPES pelo apoio a pesquisa.





## Ciências Agrárias

### Efeitos da utilização de extrato natural de fruta nativa nas propriedades físico-químicas e microbiológicas de queijo Minas Frescal de cabra com teor reduzido de sódio

Clara Eppinghaus Paes; Rodrigo Vilela de Barro Pinto Moreira;  
Carlos Adam Conte Junior

Departamento de Tecnologia de Alimentos / Faculdade de Veterinária / Centro Laboratorial Analítico

#### INTRODUÇÃO:

O leite de cabra e seus derivados são considerados produtos com elevado potencial de saudabilidade, promovendo benefícios em funções fisiológicas e possuindo maior digestibilidade em relação ao leite bovino (PARK et al., 2007). Além disso, o mercado caprino no Brasil, composto principalmente por pequenos produtores, tem apresentado crescimento nos últimos anos, aumentando sua produção principalmente devido à fabricação de queijos.

A fabricação de queijo é uma das atividades mais atraente economicamente para indústria de laticínios, especialmente no Brasil. O queijo Minas Frescal, típico brasileiro, é considerado um dos queijos mais populares do país, sendo o terceiro queijo mais consumido por todos os níveis populacionais, o que é atrativo devido ao seu alto rendimento (LOLLO et al., 2015).

Outro fator de relevância para os consumidores que buscam qualidade de vida é a redução do consumo de sódio, que tem sido fortemente relacionado a doenças cardiovasculares e aumento da pressão arterial (WHO, 2012). Em contrapartida, a redução deste componente implica em desafios tecnológicos, uma vez que possui diversas funções na produção de alimentos, sendo uma das suas principais atribuições o efeito antimicrobiano em queijos (MCMAHON et al., 2014). Alternativas tecnológicas como substituição parcial por sal sem o íon de sódio e adição de antimicrobianos naturais têm sido estudadas com vista a diminuir a ingestão de sódio pela população.

Dessa forma, objetivou-se nessa pesquisa determinar o melhor ponto de adição de extrato natural de pequi em queijo Minas Frescal caprino com redução de sódio durante os 21

dias de armazenamento a  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ , a fim de prolongar a validade comercial deste produto e garantir a ausência de patógenos no mesmo.

#### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram realizados quatro diferentes tratamentos: queijo controle sem adição de extrato de pequi (QC), queijo com adição do extrato no leite (QL), queijo com adição do extrato na massa (QM) e imersão do queijo em extrato (QI).

O uso de extrato de pequi teve como objetivo evitar o crescimento de microorganismos patogênicos e deteriorantes, contudo não é desejável que impeça também o desenvolvimento de bactérias ácido lácticas. No queijo controle houve aumento significativo das bactérias ácido lácticas. Em QL não houve diferença significativa, enquanto em QM e QI houve um decréscimo considerável na contagem do dia 21. A contagem de *Lactococcus* spp. apresentou constante crescimento durante os 21 dias em QC enquanto em QM os valores decresceram substancialmente. Portanto o tratamento com adição de extrato na massa (QM) promoveu interferência negativa no crescimento desejável de bactérias lácticas. Os tratamentos QL e QI apresentaram valores constantes, não havendo diferença significativa durante o período de 21 dias de armazenamento.

As bactérias *Staphylococcus* spp., coliformes totais e coliformes termotolerantes não apresentaram crescimento em nenhum tipo de tratamento, mesmo no controle. Este resultado pode estar associado a adequada pasteurização do leite.

Em relação aos parâmetros de cor, a luminosidade ( $L^*$ ) decresceu significativamente em todos os tratamentos a partir de 7 dias, com exceção de QI onde os valores aumentaram. Ainda assim, esses valores sempre se mantiveram menores do que os valores de QC e QM em todo o período de armazenamento.

Em relação ao parâmetro  $a^*$ , apenas QL apresentou aumento dos valores com diferença significativa. Apesar do decréscimo ao longo do armazenamento, os valores de QI se mantiveram altos em relação aos demais. QC e QM mantiveram os valores positivos próximo a zero, o que indica leve tonalidade avermelhada. QC, QL e QM obtiveram valores positivos crescentes de  $b^*$ , o que caracteriza tonalidade amarela, enquanto QI que inicialmente apresentava o maior valor teve diminuição durante os 21 dias. Portanto todos os queijos apresentaram alta luminosidade e predominância de tonalidade amarela. O tratamento que apresentou os valores mais distantes do controle em todos os parâmetros foi o queijo que sofreu imersão no extrato de pequi. O extrato contém compostos como carotenóides que influenciam na cor e seu contato direto com a superfície do queijo já pronto pode ter intensificado as alterações.

A análise instrumental da textura revelou que houve decréscimo significativo em ambos os parâmetros (dureza e consistência) em todos os quatro tratamentos. Podendo ser relacionado a reação de proteólise e também pela substituição parcial de NaCl por KCl, uma vez que o cloreto de potássio possui menor força iônica, diminuindo a solubilidade das proteínas (Gomes et al., 2011). QL apresentou maiores valores de dureza do que os demais tratamentos com diferença significativa. Apesar disso, nos demais parâmetros foi o tratamento que sofreu menos alterações.

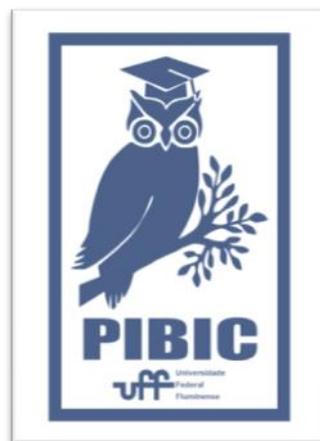
## CONCLUSÕES:

O tratamento que promoveu maior estabilidade microbiológica e nas análises de cor e textura foi a adição de extrato no leite (QL). Portanto é o ponto de adição mais recomendado para a fabricação de Queijo Minas Frescal. Ademais, para avaliação de efeito antimicrobiano em bactérias patogênicas e/ou deteriorantes deve ser realizado experimento com inoculação destas em queijos com diferentes tratamentos.

Finalmente, o extrato de resíduo de pequi pode ser considerado uma potencial fonte antioxidante e antimicrobiana para aplicação em alimentos.

## Agradecimentos:

Os autores manifestam agradecimento ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo suporte financeiro.





## Ciências Agrárias

### Estudo preliminar das alterações dos índices plaquetários e eritrocitários em cães cardiopatas

Nathalia Carneiro Maia, Rosemeri da Silva Teixeira, Andre Luis de Souza Teixeira, Márcia de Souza Xavier, Aline Moreira de Souza

Departamento de Patologia e Clínica Veterinária / Faculdade de Veterinária / LABHUVET

#### INTRODUÇÃO:

Doença valvar crônica ou endocardiose é a causa mais frequente de insuficiência cardíaca congestiva (ICC) em cães e tem etiologia desconhecida (Rush, 2002). Informações sobre a resposta das células sanguíneas são importantes no acompanhamento clínico dos animais, sendo fornecidos pelo hemograma. Atualmente na medicina veterinária o hemograma tem sido processado em contadores hematológicos automatizados, que informam índices plaquetários e eritrocitários, agregando informações ao exame, quando associados com a hematoscopia. O volume plaquetário médio (MPV), que consiste na determinação do tamanho médio das plaquetas circulantes, pode prever doenças cardiovasculares em humanos (Tsiara et al, 2003; Coban et al, 2005; Gasparyan et al, 2011). O índice de anisocitose plaquetária (PDW) indica variações no tamanho das plaquetas que podem não alterar os valores do MPV. E o percentual de macroplaquetas (P-LCR), é o percentual de macroplaquetas presentes, e seu aumento indica ativa trombocitopoiese (Souza et al., 2016). As plaquetas secretam diferentes substâncias que são cruciais como mediadores da coagulação, inflamação e aterosclerose (Coppinger et al., 2004; Gawaz et al., 2005). Ainda, macroplaquetas são enzimaticamente e metabolicamente mais dinâmicas que as menores, e exibem um potencial protrombótico (Kamath et al., 2001). O índice de anisocitose (RDW) indica a variação no tamanho de hemácias, e sua alteração também está associada a doenças cardiovasculares e cardiopulmonares, sendo um dos mais fortes preditores de taxa de morbidade e mortalidade em pacientes humanos com insuficiência cardíaca e infarto do miocárdio, que também podem apresentar a síndrome de anemia cardio-renal. No entanto, há poucos estudos relacionando anemia e RDW em cães com

Endocardiose (Guglielmini et al. 2013). O objetivo deste estudo foi avaliar as alterações observadas nos índices plaquetários (MPV, PDW e P-LCR) e eritrocitários (RDW) de cães com endocardiose de mitral.

#### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

No período de março a agosto de 2018, foram atendidos no Hospital Universitário de Medicina Veterinária Professor Firmino Mársico Filho (HUVET), da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, 12 animais (9 a 17 anos) com endocardiose de mitral, confirmados com ecocardiograma. Como grupo controle, 14 cães (1 a 5 anos) sem alterações clínicas foram utilizados. As amostras sanguíneas foram processadas em até 30 minutos após a coleta e analisadas em contador hematológico (Sysmex modelo Poch 100lv). A hematoscopia foi realizada em objetiva de imersão na microscopia óptica em esfregaços sanguíneos corados com corante instantâneo (Panótico rápido). Os valores médios de plaquetometria nos cardiopatas foi 397.833 ( $\pm$  99.848) plaquetas/ $\mu$ L e no controle foi 322.357 ( $\pm$ 93.903) plaquetas/ $\mu$ L, não havendo animais com trombocitopenia ou trombocitose. Nenhum animal apresentou MPV alterado, com média de 11,6 ( $\pm$ 1,4) fL no grupo dos cardiopatas e 11,8 ( $\pm$ 1,2) fL no grupo controle. Os valores médios do PDW não diferiram entre os grupos cardiopatas (13,3 ( $\pm$ 2,5) fL) e controle (13,6 ( $\pm$ 2,3) fL). O P-LCR no grupo de cardiopatas teve média de 38,6 ( $\pm$ 13,7) %, estando alterado em 41,66% (5/12). No grupo controle, a média foi de 40,6 ( $\pm$ 12,8) %, estando alterado em 35,7% (5/14). Os índices PDW e P-LCR foram mais sensíveis em indicar variações no volume plaquetário que o MPV, já que este retrata apenas o tamanho médio das plaquetas, corroborando estudo realizado por Souza et al (2016). O aumento observado pode indicar mudanças na síntese de plaquetas e

reatividade, assim como trombocitopoiese. O grupo cardiopata apresentou hematócrito médio de 42 ( $\pm 7,6$ ) %, e 25% (3/12) tinha anemia. Não houve alterações no grupo controle, com hematócrito médio de 48,4 ( $\pm 5$ ) %. Apenas 8,3% (1/12) dos cardiopatas teve aumento em Volume Globular Médio (VGM), com média de 68,6 ( $\pm 4,8$ ) fL, ficando próximo da média do grupo controle (68,7 ( $\pm 2,3$ ) fL). Baixa prevalência de anemia em cães cardiopatas foi relatada por Guglielmini et al (2013), assim como anemia discreta, o que corrobora o presente trabalho onde o hematócrito dos cães anêmicos variou de 31% a 36%. Em relação ao RDW, 50% (6/12) dos animais cardiopatas apresentaram valores acima da referência e média de 12,6 ( $\pm 1,3$ ) %, enquanto o grupo controle teve média 11,4 ( $\pm 0,7$ ) % e não apresentou alterações. Em cardiopatas humanos, anisocitose pode ser consequência de um estado de inflamação e deficiência no metabolismo de ferro. Ou ainda, citocinas inflamatórias podem afetar a medula óssea, inibindo a maturação dos eritrócitos, refletindo o aumento do índice.

#### CONCLUSÕES:

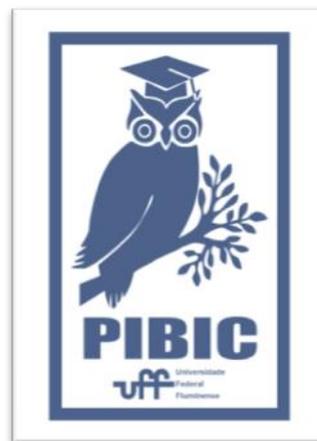
Os resultados indicam que há aumento do valor de RDW e possível correlação com a endocardiose em cães. Por outro lado, nenhum dos índices plaquetários mostrou se comportar como fator preditivo na endocardiose canina. Com isso, a continuidade deste estudo é importante para ampliar gradativamente o número de animais para que seja possível maior clareza quanto à aplicabilidade na rotina diagnóstica em cardiopatias caninas.

#### BIBLIOGRAFIA:

COBAN, E.;OZDOGAN, G.;YAZICIOGLU, G.;AKCIT, F. The mean platelet volume in patients with obesity. *International journal of clinical practice*, v. 59, p. 981-982, 2005  
COPPINGER, J.A.;CAGNEY, G.;TOOMEY, S. et al. Characterization of the proteins released from activated platelets leads to localization of novel platelet proteins in human atherosclerotic lesions. *Blood*, v. 103, p. 2096-2104, 2004  
GASPARYAN, A.Y.;AYVAZYAN, L.;MIKHAILIDIS, D.P.;KITAS, G.D. Mean platelet volume: a link between thrombosis and inflammation? *Curr Pharm Des*, v. 17, p. 47-58, 2011  
GAWAZ, M.; LANGER, H. AE and

atherogenesis. *J Clin Invest*, v. 115, p. 3378-3384, 2005  
GUGLIELMINI, C. et al. Red blood cell distribution width in dogs with chronic degenerative valvular disease. *JAVMA*, v. 243, n. 6, p. 858-862, Set, 2013.  
KAMATH, S.;BLANN, A.D.;LIP, G.Y. Platelet activation: assessment and quantification. *Eur Heart J*, v. 22, p. 1561-1571, 2001  
RUSH, J.E. Chronic Valvular Heart Disease in Dogs. The 26th Annual Waltham® Diets/OSU Symposium Small Animal Cardiology, 2002.  
SOUZA, A. M.; PEREIRA, J. J.; CAMPOS, S. D. E.; FILHO, R. A. T.; XAVIER, M. S.; BACELAR, D. T. L.; ALMOSNY, N. R. P. Platelet indices in dogs with thrombocytopenia and dogs with normal platelet counts. *ARCHIVOS DE MEDICINA VETERINARIA*, v.48, p.277 - 281, 2016  
TSIARA, S.;ELISAF, M.;JAGROOP, I.A.;MIKHAILIDIS, D.P. Platelets as predictors of vascular risk: is there a practical index of platelet activity? *Clin Appl Thromb Hemost*, v. 9, p. 177-190, 2003.

#### Agradecimentos:





## Ciências Agrárias

### Resistência à Cefalosporinas em cepas de *Escherichia coli* EPEC e STEC isoladas de carcaças de frangos de corte

**Luiza Cristina P. V. Alves, Gisllany Alves da Costa, Hugo Peralva Lopes, Ana Luisa O.C. Carneiro, Isabela B.B.E. Rodrigues, Thomas Salles Dias, Leandro dos Santos Machado, Daniele Soares Fialho, Arthur de Almeida Figueira, Jéssica Francisco de Oliveira, Heitor Dias Carneiro, Dayse Lima da Costa**

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

#### INTRODUÇÃO:

A *Escherichia coli* é um dos componentes da microbiota intestinal do homem, coexistindo neste ambiente cepas comensais e patogênicas, podendo estas últimas, causar doenças intestinais graves. A principal via de contaminação ocorre pela ingestão de produtos de origem animal contaminados, entre eles os produtos avícolas (MUGHINI-GRAS, 2018). Entre os patótipos que causam diarreia no homem, e que são encontrados em aves e produtos avícolas, destacam-se os patótipos EPEC e STEC (ALONSO et al, 2012) que se constituem em patógenos de importância em saúde pública por estarem ligados a um amplo espectro de doenças no homem. Estas doenças variam desde uma diarreia leve até severas diarreias sanguinolentas, que podem evoluir para complicações extraintestinais graves como a Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU), que pode levar à falência renal (IFEANYI et al., 2016; FIERZ et al., 2017). Genotipicamente, o patótipo EPEC se caracteriza pela presença do gene *eae*, capaz de codificar uma intimina que causa lesão no enterócito e o patótipo STEC pela presença de genes (*stx1* e/ou *stx2*) que codificam a produção de potentes toxinas chamadas de shiga toxinas (GYLES, 2007). A antibioticoterapia é uma das formas de tratamento nos casos de infecção com cepas dos patótipos EPEC ou STEC, embora seja recomendada apenas em casos graves (YANG 2017). Cefalosporinas são consideradas como uma das poucas opções para o tratamento das infecções graves causadas por *E. coli*, ao mesmo tempo que são conhecidas por selecionarem cepas resistentes em animais (WHO, 2016). Nas criações intensivas de frango de corte a alta resistência às Cefalosporinas em isolados de *E. coli* é um indicativo da existência de pressão seletiva sobre a microbiota em decorrência do uso desta classe de antimicrobianos nas aves (KORB et al, 2015). Nesse contexto, este estudo teve como objetivo verificar o perfil de resistência às Cefalosporinas em *E. coli* dos patótipos EPEC e

STEC isolados de carcaças de frangos. Para isso, foram coletadas 10 carcaças de seis diferentes abatedouros. As carcaças foram acondicionadas em sacos esterilizados e transportadas até Núcleo de Diagnóstico Avícola da UFF sob refrigeração. Aos sacos foram acrescentados 400 ml de Solução Salina Peptonada a 1%. As amostras foram homogeneizadas e 10 ml de cada amostra foram transferidos para tubos esterilizados e incubados por 24h a 37°C. Após esse período, as amostras foram semeadas em ágar *MacConkey* e incubadas nas mesmas condições. Três colônias com características compatíveis com *E. coli* foram submetidas à caracterização bioquímica segundo MacFaddin (2000). Os cultivos considerados positivos foram submetidos ao teste de difusão em disco (CLSI, 2014) para detecção das cepas resistentes à ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima e ao ceftiofur. Utilizou-se a PCR para detecção do gene *eae* (DUTTA et al, 2011) e dos genes *stx-1* e *stx-2* (VIDAL et al, 2005). Todas as amostras foram submetidas ao método térmico para extração do DNA. Para a reação de amplificação do gene *eae* foram adicionados a cada 100mM de DNA extraído, 1X Tampão 10X; 1,5mM de MgCl<sub>2</sub>; 0,2mM de dNTP; 0,4 µM de cada *primer*; 1U de Taq Polimerase, totalizando o volume final de 25,00 µL. Na reação para detecção dos genes *stx-1* e *stx-2* foram adicionados a cada 100mM de DNA extraído, 1X de Tampão 10X; 2mM de MgCl<sub>2</sub>; 0,4mM de dNTP; 0,4µM de cada *primer*; 1U de Taq Polimerase, totalizando o volume final de 25 µL. A amplificação foi realizada em um termociclador. Após prévia desnaturação a 94° C por 5 minutos, foram utilizados 30 ciclos de 94° C por 45 segundos, 59° C por 45 segundos, 72° C por um minuto e uma extensão final a 72°C por 6 minutos. Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5% e observados em um transiluminador sob luz ultravioleta.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Das 60 carcaças analisadas foram recuperadas 85 cepas de *E.coli*. Foram caracterizadas como EPEC 29,4% (25/85) das cepas, por carregarem somente o gene *eae*, e 7,1% (6/85) como STEC (Tabela 1), por carregarem apenas o gene *stx*, sendo que, nas amostras estudadas foi detectado apenas o gene *stx1*. Alonso et al, 2012 também descreveram uma maior prevalência de EPEC sobre STEC, como no presente estudo. Duas cepas STEC apresentaram uma associação entre *stx1* e *eae*. Cepas carregando o gene *stx1* estão menos relacionadas com o desenvolvimento da SHU. No entanto o gene *eae* confere maior virulência às cepas. Fierz et al (2017) demonstrou que a associação de STEC carregando o gene *eae* está relacionada a um dos sorotipos mais patogênicos, como o O157:H7. O maior percentual de resistência foi detectado à Ceftriaxona (25,9%) e à Cefotaxima (22,2%) nas cepas não EPEC/STEC. Cepas resistentes a Cefalosporinas, patogênicas ou comensais, representam o mesmo risco, desde que todas são passíveis de transmitir determinantes genéticos de resistência que podem ser transmitidos para bactérias da microbiota do consumidor.

## CONCLUSÕES:

Baseado na detecção pela PCR foi possível constatar a circulação de cepas diarreio gênicas nos lotes estudados. A resistência às Cefalosporinas indicam um risco adicional. Independente da categoria, se patogênicas ou comensais, ambas podem ser veículos de determinantes de resistência antimicrobiana que podem ser transferidos às bactérias da microbiota intestinal.

## REFERÊNCIAS:

- ALONSO, M. Z., et al. *Food Control*. v.23, p.351-355, 2012.
- CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI document m100-s24. Wayne, pa: Clin. Lab. Stand. Inst., 2014.
- DUTTA, T.K. et al. *Ind. J. Med. Res.*, v.133, n.5, p.541-545, 2011.
- FIERZ, L et al. *Front. Microbiol.*. v.8, n.1471, 2017.
- GYLES, C.L. *J. An. Sc.*, v.85, n.13, p. E45–E62, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17085726>>. Acesso em: 06/09/18.
- IFEANYI, C.I.C.et al. *J.Infec.Develop. Count.*. v.11, n.7, p.527-535, 2016.
- KORB, A. et al. *Pesq. Vet. Bras.*, v.35, n.3, p. 258-264, 2015.
- MACFADDIN, J. F.. Baltimore: Lippincott Williams e Wilkins, 2000. p. 915.
- MUGHINI-GRAS, L. et al.. *Zoo. Pub.Health*,v. 65,n.1,p.8–22, 2018.
- VIDAL, M. et al. *J.Clinical Microbiology*, v.43, n.10, p.5362–5365, 2005.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Critically important antimicrobials for human medicine – 5th rev. Geneva, 2017. Disponível em:< <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255027/9789241512220-eng.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 06/09/2018.
- YANG, S.C. et al. *Arch.Microbiol.*,v. 199, n.6, p.811–825, 2017.

Tabela 1. Frequência de cepas de *Escherichia coli* dos patotipos EPEC e STEC e perfil de resistência à Cefalosporinas

Antibiótico	EPEC N= 25 (29,4%)			STEC N= 6 (7,1%)			Não EPEC/STEC (N=54) N= 54 (63,5%)		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S
Ceftazidima	3 (12%)	3 (12%)	19 (76%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (100%)	3 (5,6%)	4 (7,4%)	47 (77,8%)
Ceftriaxona	5 (20%)	0 (0%)	20 (80%)	1 (16,7%)	0 (0%)	5 (83,3%)	14 (25,9%)	6 (5,6%)	34 (68,5%)
Cefotaxima	5 (20%)	1 (4%)	19 (76%)	1 (16,7%)	0 (0%)	5 (83,3%)	12 (22,2%)	4 (7,4%)	38 (72,2%)
Ceftiofur	3 (12%)	2 (8%)	20 (80%)	1 (16,7%)	0 (0%)	5 (83,3%)	2 (3,7%)	11 (20,4%)	41 (74,1%)

## Agradecimentos:

À FAPERJ pelo apoio financeiro.



## Ciências Agrárias Avaliação da Pressão Arterial Sistólica em Cães com Endocrinopatias

Dianna Caroline Saiki<sup>1</sup>, Maria Cristina Nobre e Castro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduanda bolsista IC Faperj/Medicina Veterinária/Faculdade de Veterinária/UFF;

<sup>2</sup>Docente Associado IV, MCV/Faculdade de Veterinária/UFF

### INTRODUÇÃO:

Hipertensão sistêmica é definida como um aumento sustentado da pressão sanguínea, que pode ocorrer pelo aumento do débito cardíaco ou pelo aumento da resistência vascular. O estabelecimento da hipertensão é resultante da interação complexa de mecanismos endócrino, renal, vascular e nervoso (LOVE,L;HARVEY,2006; NELSON et al, 2015) A hipertensão primária ou idiopática é mais comum em humanos e não tem etiologia definida; já a secundária, mais comum em cães e gatos, ocorre como consequência de alguma doença como endocrinopatias e doenças renais. (BROWN et al, 2007).

Os distúrbios endócrinos são causas frequentes de atendimento clínico em medicina interna de cães. Em recente publicação científica de levantamento realizado no HUVET Firmino Mársico Filho da Faculdade de Veterinária da UFF, de 445 atendimentos na área de endocrinologia realizados em um período de dois anos, o hiperadrenocorticismo representou quase a metade dos casos, contabilizando 47,6% dos animais atendidos (212/445), seguido de diabetes mellitus (74/445), representando 16,6% dos casos (SAIKI et al, 2018).

O aumento sustentado da pressão arterial pode levar a lesões em órgãos alvo. Apesar de existirem os mecanismos de auto regulação, estes órgãos podem apresentar isquemia, infarto, edema e hemorragia por perda da função epitelial capilar. Os principais órgãos considerados alvo para essas alterações durante a hipertensão são os olhos, rins, coração e cérebro (EGNER, 2007). Esse risco é definido a partir dos valores de pressão arterial, onde o risco é mínimo quando a pressão encontra-se abaixo de 150 mmHg, médio se entre 150 e 159 mmHg, moderado se entre 160 e 179mmHg e elevado se acima de 180 mmHg (BROWN et al, 2007).

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo estudar as alterações de pressão arterial decorrentes de endocrinopatias na população canina atendida no Hospital Universitário Firmino Mársico Filho (HUVET-UFF) e em outras clínicas particulares do Rio de Janeiro, observando o risco de lesão em órgãos alvo. Foram incluídos cães, machos ou fêmeas que, independente da idade, haviam o diagnóstico prévio de doença endócrina. A mensuração da PAS (pressão arterial sistólica) foi realizada pelo método indireto Doppler. Utilizou-se o aparelho Doppler vascular da marca Microem<sup>®</sup>, esfigmomanômetro, gel para condução do ultrassom, e manguito neonatal (Dixtal<sup>®</sup>) de tamanho adequado ao porte do animal. A mensuração da pressão arterial de cada animal foi realizada com o animal consciente, calmo e climatizado com o ambiente. Cada animal foi avaliado em apenas uma visita. Não foi realizada qualquer manipulação antes da mensuração da PA. Cada animal foi posicionado sobre a mesa de atendimento em decúbito esternal ou lateral. Em todos os animais foi utilizado o membro anterior esquerdo e a artéria palmar para detecção do pulso arterial pelo Doppler. A largura da braçadeira utilizada foi de 30% a 40% do diâmetro do membro anterior do animal, sendo posicionada na região do antebraço. Foram realizadas mensurações com intervalo de 30 segundos para obter a leitura de 5 valores da PAS. O valor da primeira leitura foi inicialmente descartado, e a PAS final calculada através da média das 4 últimas aferições. Estatística descritiva foi utilizada para o cálculo da média e desvio padrão (DV).

### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram avaliados 57 cães com idade entre 4 e 17 anos (média  $11 \pm 3,0$  anos). A raça mais observada nos atendimentos foi a Poodle (13/57), seguido dos animais sem raça definida

(10/57). Quanto ao sexo, 75,4% dos animais eram fêmeas (43/57) e somente 24,6% (14/57) eram machos. A maioria (91%) dos indivíduos eram castrados (52/57).

Foram identificadas 67 endocrinopatias nos 57 animais atendidos, pois alguns pacientes tinham o diagnóstico de mais de uma endocrinopatia. O hiperadrenocorticismo foi a doença mais comum (39/57), seguido do hipotireoidismo (11/57) e da diabetes (10/57). Também foram atendidos animais com hipoadrenocorticismo (3/57), obesidade (2/57) hiperadrenocorticismo atípico (1/57) e hiperlipidemia primária (1/57).

A pressão arterial sistólica média da população estudada foi de  $135,6 \pm 21,47$  mmHg. A pressão arterial média mais elevada foi observada nos indivíduos portadores de diabetes, com valor de  $141,5 \pm 26,9$  mmHg. Dos dez animais diabéticos, sete apresentaram risco mínimo de lesão em órgãos alvo, com valores de pressão arterial abaixo de 150 mmHg, um paciente apresentou risco moderado, com pressão 160mmHg e dois apresentaram risco grave, com a pressão arterial de 180 mmHg e 187 mmHg.

A segunda doença endócrina com valores mais elevados de pressão arterial sistólica foi o hiperadrenocorticismo. A pressão sistólica média foi de  $136,5 \pm 22,8$  mmHg. Dos 39 animais avaliados, 30 apresentaram risco mínimo de lesão em órgãos alvo, porém quatro apresentaram risco médio, três apresentaram risco moderado, e dois apresentaram risco grave. O maior valor de pressão arterial sistólica registrada foi em um animal portador de hiperadrenocorticismo, com 225 mmHg de pressão arterial sistólica.

Nos pacientes diagnosticados com hipotireoidismo e hipoadrenocorticismo não se observou valores de pressão arterial sistólicas relacionados a hipertensão e risco de lesões em órgão alvo graves. A média de valores de pressão arterial sistólica nesses pacientes foi de 132,5 mmHg. Apenas um animal portador de hipotireoidismo apresentou pressão arterial sistólica de 155 mmHg.

As demais endocrinopatias observadas durante o estudo incluíram a hiperlipidemia primária, hiperadrenocorticismo atípico e obesidade. Em todos esses pacientes os valores de pressão arterial sistólica estavam dentro dos valores considerados normais, com médias de 120 mmHg, 132,5mmHg e 118,7mmHg respectivamente.

## CONCLUSÕES:

Com a análise dos resultados foi possível evidenciar o impacto das doenças endócrinas sobre a pressão arterial sistêmica, determinando o risco de lesão em órgãos alvo que a hipertensão provoca.

Isso porque foi observado que 30% dos cães portadores de diabetes e hiperadrenocorticismo apresentaram hipertensão arterial, caracterizando-as como as principais doenças potencialmente causadoras de lesão em órgãos alvo e que exigem cuidados durante o atendimento clínico.

A respeito da frequência de distribuição das doenças, não se observou o hipotireoidismo como a doença endócrina mais prevalente em cães como era esperado (CASTILLO, 2011). A doença mais prevalente foi o hiperadrenocorticismo, acometendo 68,4% dos animais estudados.

Conhecendo a frequência das endocrinopatias comumente associadas a hipertensão em cães, torna possível que medidas preventivas sejam instituídas na rotina de atendimento clínico em medicina veterinária. Assim, o uso de métodos não invasivos para aferição da pressão arterial sistólica, como o método Doppler, é essencial para identificação e/ou prevenção da ocorrência de complicações importantes próprias da elevação da pressão arterial sistêmica.

## Agradecimentos:

À FAPERJ pela bolsa de iniciação científica da aluna.

Thatiana Leite Pinto, Médica Veterinária Voluntária no Projeto Extensão Atendimento Clínico de Cães e Gatos do HUVET-UFF/Faculdade de Veterinária/UFF;

Flavia Maria Tavares Manoel, Médica Veterinária autônoma Clínica Vet Fãs





## Ciências Agrárias

### Fatores de Virulência em *Salmonella* Typhimurium: a sagacidade de uma bactéria

Anamaria M. P. dos Santos; Rafaela G. Ferrari e  
Carlos Adam Conte Junior

Departamento de Tecnologia de Alimentos/  
Faculdade de Medicina Veterinária/ Centro  
Laboratorial Analítico

#### INTRODUÇÃO:

Devido ao seu caráter zoonótico, *Salmonella* spp. vem se apresentando como um grande desafio à saúde pública. Esse patógeno caracteriza-se como uma das principais causas de gastroenterite em humanos em diversos países, estando disseminada tanto em homens como em animais. Dentre os sorotipos frequentemente isolados destaca-se o *S. Typhimurium*. Tal sorotipo apresenta disseminação generalista e já foi isolado em uma variedade de matrizes alimentares de origem animal, tais como carnes suína, bovina e frango, tornando-o um sorotipo de grande importância para a Medicina Veterinária, tanto do ponto de vista clínico, como pela segurança em alimentos. No Brasil, *S. Typhimurium* foi a mais reportada em casos de gastroenterite humana até meados dos anos 90, sendo ultrapassada em seguida pela *S. Enteritidis*. Recentemente, no entanto, uma cepa de *S. Typhimurium* com características invasivas foi encontrada no Brasil. Essas características a tornam mais patogênica, uma vez que a permite ultrapassar a barreira entérica e ganhar circulação sistêmica, levando a um quadro septicêmico podendo culminar com a morte. Dessa forma, estudos voltaram-se aos Fatores de Virulência desse sorotipo para entender o que permitiram tal invasividade. Fatores de Virulência são definidos como estratégias, produtos ou estruturas utilizadas pelos micro-organismos para aumentar a sua capacidade de infecção, sendo, então, de grande importância para a manutenção da patogenicidade de uma bactéria. Diante de tal importância, este trabalho visou o desenvolvimento de um artigo de revisão acerca dos principais Fatores de Virulência de *Salmonella* Typhimurium, focando

os estudos nas cinco ilhas de patogenicidade dessa bactéria, assim como em plasmídeo de virulência, fimbrias e flagelos.

#### RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram utilizadas as principais plataformas de pesquisa, como PubMed, ScienceDirect e Google Acadêmico, para pesquisar os aspectos dos principais Fatores de Virulência de *Salmonella* Typhimurium. Enfatizou-se a pesquisa nas cinco ilhas de patogenicidade dessa bactéria (SPI), assim como em seu plasmídeo de virulência, fimbrias e flagelo. A maioria desses fatores é expressa em forma de proteínas codificadas no cromossomo da bactéria. Os mais estudados e, portanto, mais comentados no artigo são os presentes nas duas primeiras ilhas de patogenicidade, as chamadas SPI-1 e SPI-2. Tal importância é dada porque as proteínas codificadas nessas ilhas são responsáveis pela invasão, sobrevivência e permanência da *Salmonella* Typhimurium dentro das células do hospedeiro, levando, assim, à manifestação dos sintomas. O resultado desse estudo foi um artigo de revisão denominado "Virulence Factors in *Salmonella* Typhimurium: the sagacity of a bacterium", publicado na revista *Current Microbiology* em Maio de 2018. O artigo já teve 305 leituras e uma citação no momento da escritura desse resumo.

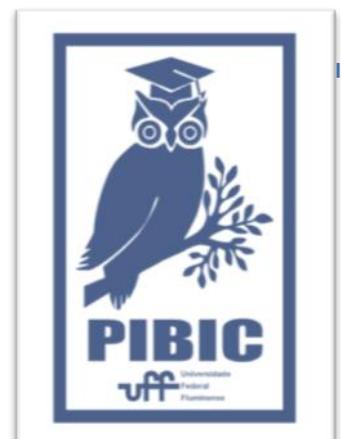
#### CONCLUSÕES:

O desenvolvimento do artigo de revisão permitiu, além do maior conhecimento, o desdobramento de um pensamento crítico

acerca dos fatores de virulência da *Salmonella* Typhimurium. Tal desdobramento permite enxergar o que ainda precisa ser estudado e pesquisado, como as outras três ilhas de patogenicidade (SPI-3,4 e 5), que possuem alguns dados baseados em conhecimentos empíricos, assim como alguns genes do plasmídeo de virulência. Além disso, estudos precisam ser deliberados acerca do papel dos genes que codificam as fímbrias na infecção pela *Salmonella* Typhimurium. O conhecimento geral desses fatores pode levar à expansão de técnicas terapêuticas alternativas e eficientes contra este patógeno, o que é de grande importância, uma vez que este vem se tornando mais invasivo e virulento no decorrer dos anos.

### **Agradecimentos:**

Deixa-se aqui os agradecimentos a Dr<sup>a</sup> Rafaela Ferrari e ao Prof. Dr Carlos Conte pela co-autoria e ajuda no desenvolvimento do artigo. Agradece-se também Virginia Silveira pelo design das figuras que constam no mesmo.





**Ciências Agrárias**

**Prevalência de *Cryptosporidium* spp em Animais da Classe Reptilia Oriundos do Zoológico do Rio de Janeiro – RioZoo**

**Eduardo Burgarelli Mayrink Cardoso  
Beatriz Brener**

**Instituto Biomédico/ MIP/ Disciplina de Parasitologia**

**INTRODUÇÃO:** Os répteis são representados por diversas espécies conhecidas atualmente, no qual estão divididos em quatro Ordens: Testudines (tartarugas, cágados e jabutis), Crocodylia (crocodilos e jacarés), Squamata (lagartos, serpentes e lagartos ápodos) e Sphenodonta (tatuara). 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* e suas diferentes espécies, que podem 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. Não se conhece nenhum fármaco comprovadamente eficaz no tratamento da criptosporidiose, sendo o controle das formas ambientais a medida mais importante num contexto profilático. Estudos sugerem que o ambiente cativo favorece a manutenção e disseminação da criptosporidiose e fatores como o estresse excessivo provocado pela exposição, densidade de animal por

recinto, estruturas das instalações, manejo sanitário, podem contribuir para a infecção, transmissão e aparecimento dos sinais clínicos nos animais. O presente estudo tem como objetivo avaliar a ocorrência de protozoários do gênero *Cryptosporidium* em alguns animais da Classe Reptilia, oriundos do Zoológico do Rio de Janeiro - RioZoo. O RioZoo atualmente conta com cerca de 25 serpentes, 32 jacarés e 1 iguana. As amostras desses animais serão coletadas pela equipe de médicos veterinários do RioZoo, conservadas e levadas para o Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense, onde serão processadas e analisadas nos laboratórios da disciplina de Parasitologia.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Até o momento foram coletadas amostras de 24 animais, sendo 10 serpentes e 14 jacarés.

Dentre as dez serpentes, quatro eram da espécie *Boa constrictor*, conhecidas comumente como Jibóia-constritora, quatro da espécie *Python regius*, conhecidas como Píton-real, uma *Epicrates crassus*, conhecida como Salamanta-do-sudeste e uma *Crotalus* spp. conhecida como Cascavel. As amostras coletadas foram lavados gástricos e cloacais com solução salina a 0,9%, exceto na espécie do gênero *Crotalus*, no

qual foi coletado apenas o lavado cloacal, prezando pela segurança dos profissionais que estavam realizando a coleta.

Os 14 jacarés eram da espécie *Caiman latirostris*, conhecidos como Jacaré-de-papo amarelo. Doze animais eram fêmeas e um macho em idade juvenil, totalizando 13 animais. A outra amostra foi oriunda de um macho adulto que veio a óbito, onde as fezes foram coletadas diretamente do intestino grosso no momento da necropsia. As amostras dos juvenis foram a partir de lavados cloacais com solução salina a 0,9%.

Todas as amostras foram armazenadas em recipientes previamente estéreis e com tampa para o correto fechamento, e refrigeradas em geladeira. A amostra de fezes coletada na necropsia do jacaré adulto passou pelo processo de tamização e sedimentação em tubo *falcon*, para posterior separação do sedimento para o congelamento. As amostras em solução salina passaram apenas pelo processo de sedimentação para posterior congelamento.

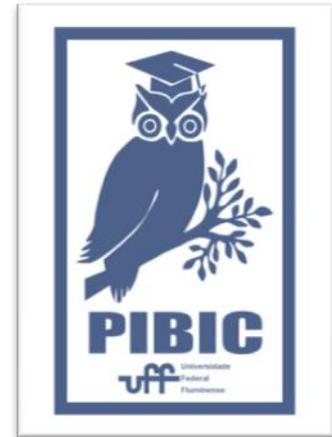
As amostras serão analisadas pela técnica de ELISA.

## **CONCLUSÕES:**

Acredita-se que este estudo poderá colaborar no conhecimento da dispersão do parasito e seus hospedeiros.

## **Agradecimentos:**

Faperj





## Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias

**Título do Projeto:** “Avaliação dos conhecimentos sobre toxoplasmose e outras parasitoses zoonóticas, determinação dos fatores de risco e aplicação de medidas de prevenção primária entre proprietários de cães e gatos domésticos no município do Rio de

Janeiro, RJ, Brasil”

**Autores:** Yasmim Mendes; Igor Falco; Raíssa Braz; Alynne Barbosa; Maria Regina Reis Amendoeira; Patricia Riddell Millar.

**Departamento/Unidade/Laboratório:** MIP/Instituto Biomédico/Laboratório de Parasitologia.

### INTRODUÇÃO:

As zoonoses parasitárias refletem um importante problema de saúde pública muitas vezes negligenciado pelos países em desenvolvimento, os quais possuem condições mais favoráveis para a transmissão dos agentes, uma vez que o controle da população de cães errantes ou semi-domesticados é precário. A situação é ainda pior em regiões de baixo índice socioeconômico, onde há falta de higiene, superlotação, assistência médico-veterinária insuficiente e falta de informação a respeito dos métodos de prevenção. Os gatos também possuem importância, uma vez que o crescente número de felinos errantes, os quais são malnutridos, não recebem tratamento antiparasitário e vivem mais expostos a infecções, reflete na grande prevalência de endoparasitos nesses animais, os quais podem manter o ciclo no ambiente e transmiti-los diretamente para os seres humanos e outros animais. Entre as principais parasitoses de cães e/ou gatos que podem acometer humanos, é possível destacar a infecção por *Ancylostoma* spp, *Toxocara* spp, *Echinococcus granulosus*, *Giardia duodenalis*, *Isospora* spp, *Dipylidium caninum*, *Strongyloides stercoralis*, *Cryptosporidium* sp e *Toxoplasma gondii*. A transmissão para o homem pode ocorrer de diferentes maneiras, desde a penetração da

larva através da pele até a ingestão de ovos ou oocistos presentes no solo, alimentos, fômites, água ou por contato direto com os animais.

A infecção por *Toxoplasma gondii* é uma das parasitoses mais comuns no homem e em animais de sangue quente. Um estudo de Santos et al. demonstrou, em 2009, prevalência de 88,5% de anticorpos anti-*T. gondii* em cães e 97,4% em humanos, corroborando com a afirmação anterior. A soroprevalência mundial de toxoplasmose em gatos, por sua vez, gira em torno de 30 a 40%. O felídeo é o único hospedeiro definitivo e pode liberar milhões de oocistos nas fezes após ingerir poucos bradizoítas. Os oocistos esporulados podem resistir por meses em ambientes desfavoráveis), podendo ser carregados por invertebrados (moscas, baratas, besouros), funcionando como vetores mecânicos. Embora com pouca importância epidemiológica, os cães podem atuar na transmissão da toxoplasmose para seres humanos e outros animais de forma mecânica, por carregarem oocistos.

O trabalho teve como objetivo avaliar os conhecimentos dos tutores de cães e gatos domésticos atendidos no Instituto Municipal de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman (IJV), localizado no município do Rio de Janeiro (Brasil), acerca da toxoplasmose e demais parasitoses gastrointestinais que podem

acometer tanto animais quanto seus tutores, bem como identificar os fatores de risco e aplicar medidas de prevenção contra essas afecções.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram incluídos no estudo proprietários de cães e gatos domésticos no local de estudo. A população estudada foi bastante heterogênea em relação à faixa etária, grau de escolaridade e situação socioeconômica. Cada tutor foi entrevistado uma única vez. Um formulário epidemiológico referente ao animal era aplicado oralmente, isto é, o entrevistador realizava as perguntas para o proprietário. O questionário padrão com perguntas direcionadas ao tutor, por outro lado, era entregue para o mesmo, para que este escrevesse suas respostas. Em caso de dificuldade ou impossibilidade de ler ou escrever, o questionário era também aplicado oralmente. Entre as perguntas estavam questões objetivas como idade do participante e do animal; raça, peso, vacinação, vermifugação, alimentação e hábito de caça do animal; condições do local onde vivem; hábitos alimentares e de higiene do tutor; nível de escolaridade; renda familiar; enfermidades parasitárias diagnosticadas previamente e conhecimentos acerca das parasitoses.

Foram entrevistados, ao todo, 358 proprietários. Dentre os animais, foram contabilizados 334 caninos e 128 felinos, demonstrando que os cães corresponderam a 72,29% dos atendimentos a pequenos animais no IJV durante o período do estudo. Essa grande diferença no total de animais (462), baseado nas respostas ao formulário (Apêndice 1), e no total de proprietários (358), obtido das respostas ao questionário, deve-se ao fato de muitos tutores levarem mais de um animal para atendimento. Além disso, muitos não responderam ao questionário e responderam ao formulário, uma vez que aquele continha, inicialmente, um grande número de páginas e que era aplicado após a entrevista. Por isso,

como o preenchimento é voluntário, muitos optaram por não responder ao questionário ou responderam apenas a algumas questões. Alguns tutores também se abstiveram de responder a algumas perguntas do formulário. No entanto, isso ocorreu com menor frequência.

Para ambas as espécies caninas e felinas, foram questionados os hábitos alimentares, água para consumo e local de defecação, que demonstraram predominância de alimentação com ração seca (95,42%), comida caseira (39,52%) e carne e embutidos (24,58%), fornecimento de água da bica ou filtrada (52,48% e 51,49%, respectivamente) e defecação na rua (31,80%) ou no quintal (29,13%).

Além disso, foi questionado se os animais possuíam acesso à rua, o que obteve resposta positiva em 51,85% dos casos (n=432). Também foi perguntado se demonstravam hábito de caça, mas apenas 39,36% do total (n=409) já havia caçado algum tipo de animal. Além disso, 52,51% (n=398) afirmam que seus animais vão ao Médico Veterinário com frequência. Com relação ao tipo de moradia, 68,70% moram em casa e 30,81% em apartamento, enquanto 36,02% das moradias não possuem quintal e, dentre as que possuem, o principal tipo de quintal era de cimentado (49,62%). Apenas 30,33% (n=398) confirmaram a presença de ratos nas adjacências de sua moradia.

Com relação à toxoplasmose, 6,20% (n=387) afirmaram existir caso (s) de toxoplasmose na família e 69,44% (n=396) dos entrevistados relataram ter ouvido falar a respeito da parasitose.

A distribuição de faixas etárias dos tutores e seus níveis de escolaridade são demonstrados nos Quadros 1 e 2, respectivamente, evidenciando a predominância de proprietários de 46 anos ou mais e com segundo grau completo.

Idade dos Proprietários (%)	
18 a 30 anos	18,68%
31 a 45 anos	29,67%
46 anos ou mais	51,65%

Quadro 1: Idade dos proprietários (n=273) de cães e gatos atendidos no IJV durante o período do estudo.

Nível de Escolaridade dos Proprietários (%)	
Analfabeto(a)	1,10%
Primeiro grau incompleto	10,62%
Primeiro grau completo	4,40%
Segundo grau incompleto	8,79%
Segundo grau completo	42,49%
Graduação ou mais	32,60%

Quadro 2: Nível de escolaridade dos proprietários (n=273) de cães e gatos atendidos no IJV durante o período de estudo.

Quanto ao destino das fezes dos animais por seus proprietários destacou-se o lixo comum como principal destino. É importante ressaltar que 1,82% dos tutores despejam as fezes de seus cães e/ou gatos diretamente na caixa ou rede de esgoto ou em valas. Dos entrevistados, 3,69% (n=271) relataram não existir saneamento básico (tratamento de esgoto e água potável) na sua residência. Quanto ao hábito de lavar as mãos, foi evidenciado que, a maior parte dos proprietários higienizam suas mãos sempre ou frequentemente antes de comer e após ir ao banheiro. Além disso, 60,67% (n=267) negaram andar descalços (as), o que pode ser um fator de proteção às parasitoses.

Com relação aos hábitos alimentares dos tutores, 92,99% (n=271) relataram comer frutas e/ou verduras e 95,56% (n=270) disseram lavá-las corretamente antes de ingeri-las. Do total, 35,06% (n=271) afirmam comer carne crua ou malpassada, principalmente (29,15%) em churrascos ou provando-a enquanto

cozinha. O tipo de água utilizado para consumo pelos proprietários era, na sua maioria, filtrada.

A respeito dos conhecimentos, apenas 39,76% (n=254) acreditam que uma pessoa possa transmitir verminoses para um animal, enquanto 74,23% (n=260) acreditam que o contrário seja possível.

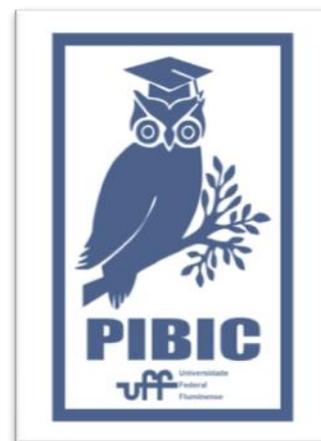
A partir da interpretação dos resultados obtidos e das informações encontradas em literatura foi elaborado um “folder” explicativo sobre as formas de transmissão, sinais clínicos e medidas profiláticas contra as principais parasitoses intestinais, o qual foi distribuído para os proprietários de animais atendidos no Instituto Municipal de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman.

## CONCLUSÕES:

Embora tenham sido identificados hábitos de prevenção, considerando os resultados obtidos, observa-se a necessidade de maior conscientização dos proprietários quanto a seus hábitos de higiene, alimentação e manejo das fezes dos seus animais. Sendo assim, torna-se necessária a adoção de medidas de prevenção primária, visando a difusão dos conhecimentos a respeito da transmissão e profilaxia das principais parasitoses zoonóticas. É muito importante que os profissionais Médicos Veterinários sejam capacitados, e as medidas de educação realizadas de forma contínua, para que a prevenção seja efetiva.

## Agradecimentos:

Ao apoio da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).





## Grande área do conhecimento Ciências Agrárias.

**Título do Projeto:** Estudo Etiológico pela PCR da Síndrome Respiratória em Galinhas Poedeiras.

**Autores:** Arthur de Almeida Figueira<sup>1</sup>, Mariane Meloni da Silva<sup>1</sup>, Rosiane Lima Silva<sup>1</sup>, Leandro dos Santos Machado<sup>1</sup>, Nilce Maria Soares<sup>2</sup>, Elmiro Rosendo do Nascimento<sup>1</sup>, Virgínia Léo de Almeida Pereira<sup>1</sup>.

**Departamento/Unidade/Laboratório:** MSV/Faculdade de Veterinária<sup>1</sup>; APTA/Instituto Biológico de Bastos, SP<sup>2</sup>.

### INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira de postura tem evoluído muito nos últimos anos e na atualidade ocupa a sétima posição no ranking dos maiores produtores. A intensificação da produção contribuiu para a produtividade e eficiência, mas contribuiu para o aumento da disseminação de doenças infecciosas. Dentre as principais regiões produtoras de ovos, destaca-se a região sudeste com 53% da produção brasileira (ABPA, 2018). No entanto, doenças que afetam o sistema respiratório das aves continuam a impactar o custo na produção (GAMA, 2004). A real situação da prevalência da síndrome respiratória no plantel avícola de postura brasileiro é pouco conhecida, entretanto tem sido uma preocupação constante por sua ocorrência frequente e de difícil controle nas regiões de maior produção no território nacional. Patógenos respiratórios, como *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e *Avibacterium paragallinarum* (AP), ainda podem interagir sinergicamente com vírus vacinais como, por exemplo, o Vírus da Bronquite Infecciosa Aviária (IBV), aumentando a severidade e duração de doença respiratória (MATTHIJS et al., 2009). Dentre as diferentes ferramentas diagnósticas, a reação em cadeia da polimerase (PCR) associada à análise dos dados zootécnicos e sinais clínicos vem sendo de grande valia no diagnóstico epidemiológico dessas doenças. Muitos estudos demonstram que a PCR apresenta especificidade maior que os testes sorológicos e o isolamento, além de uma viabilidade econômica que vem atraindo a implantação deste método nas rotinas dos laboratórios de diagnóstico (PANG, 2002). O presente projeto teve como objetivo o diagnóstico etiológico pela PCR de um quadro

de Síndrome Respiratória em duas granjas de galinhas de postura (A e B), localizadas no município de Bastos, SP. Na granja A, foram coletados 10 suabes traqueais de galinhas de quatro lotes com idades diferentes (8 semanas, 15 semanas, 21 semanas e 28 semanas), e da granja B, de dois lotes (16 semanas e 35 semanas), totalizando 60 amostras. O material foi conservado em meio Frey modificado, refrigerado e posteriormente enviado ao Laboratório de Epidemiologia Molecular, na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense. Todas as amostras foram submetidas à extração de DNA pelos métodos fenol-clorofórmio (Sambrook, 1989), Trizol® (Invitrogen) ou kits comerciais, conforme o agente a ser pesquisado. As amostras foram quantificadas e avaliadas em relação ao seu grau de pureza em espectrofotômetro Biodrop Touch® e encaminhadas à PCR com primers específicos para detecção dos principais agentes bacterianos e virais causadores de infecções respiratórias nas aves, como *M. synoviae* (MS), MG, AP, *Pasteurella multocida* (PM), *Ornithobacterium rhinotracheale* (OR) e IBV.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

A frequência de aves infectadas com MS foi a maior encontrada dentre os agentes pesquisados, tanto na granja A quanto na granja B. Isso reforça a alta prevalência desse agente na avicultura de postura. Na granja A, 37,5% (15/40) aves foram positivas para MS, 35% (14/40) para IBV, 10% (4/40) para OR e todas as amostras foram negativas para MG, AP e PM (Tabela 1). A frequência de amostras positivas para IBV na granja A pode ser resultante da vacinação dessas aves na recria e a cepa viral

pode agir de forma sinérgica à presença de outros agentes (PANG, 2002), como aconteceu em 5% (2/40) das aves diagnosticadas simultaneamente com IBV e MS e 5% (2/40) diagnosticadas com IBV e OR, neste trabalho. Também houve infecção concomitante em 2,5% (1/40) das galinhas por MS e OR. Na granja B, 75% (15/20) dos animais foram positivos para MS, 10% (2/20) positivos para MG, 5% (1/20) para IBV, 5% (1/20) para AP, 15% (3/20) para OR e todos negativos para PM. Nessa granja também houve infecção mista em 25% (5/25) das aves, sendo 5% (1/20) entre MG e IBV, 10% (2/20) entre MS e OR, 5% entre para MS e AP (1/20) e 5% para MG e OR (1/20) (Tabela 1).

Tabela 1. Percentual de infecção simples e mista de agentes respiratórios nas granjas A e B.

Agentes Infecção simples	Granja A	Granja B
	<b>MG<sup>1</sup></b>	0/40 (0)
<b>MS<sup>2</sup></b>	15/40 (37,5%)	15/20 (75%)
<b>AP<sup>3</sup></b>	0/40 (0)	1/20 (5%)
<b>PM<sup>4</sup></b>	0/40 (0)	0/20 (0)
<b>OR<sup>5</sup></b>	4/40 (10%)	3/20 (15%)
<b>IBV<sup>6</sup></b>	14/40 (35%)	1/20 (5%)
Infecção Mista	Granja A	Granja B
<b>MG + IBV</b>	0/40 (0)	1/20 (5%)
<b>MG + OR</b>	0/40 (0)	1/20 (5%)
<b>MS + OR</b>	1/40 (2,5%)	2/20 (10%)
<b>MS + AP</b>	0/40 (0)	1/20 (5%)
<b>MS + IBV</b>	2/40 (5%)	0/40 (0)
<b>IBV + OR</b>	2/40 (5%)	0/40 (0)

<sup>1</sup>*Mycoplasma gallisepticum*, <sup>2</sup>*M. synoviae*,  
<sup>3</sup>*Avibacterium paragallinarum*, <sup>4</sup>*Pasteurella multocida*, <sup>5</sup>*Ornithobacterium rhinotracheale*,  
<sup>6</sup>Vírus da Bronquite Infecciosa Aviária.

Pesquisas estimando a etiologia, a prevalência e o grau de envolvimento de cada microrganismo nos casos de doenças respiratórias, assim como o estudo das associações entre eles, são fundamentais para o desenvolvimento das medidas de prevenção e adequação da legislação de Defesa Sanitária em relação às doenças respiratórias para a garantia de uma produção de ovos competitiva e com qualidade sanitária.

## CONCLUSÕES:

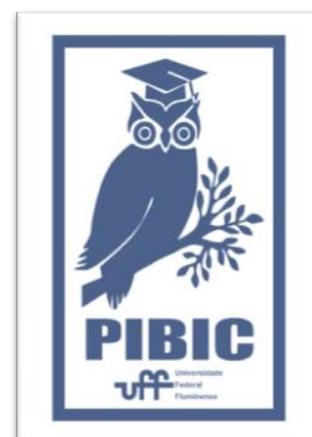
O diagnóstico molecular foi eficaz e rápido na detecção de um ou mais agentes respiratórios em poedeiras comerciais. A síndrome respiratória em poedeiras teve como agente mais frequente o MS, seguido de IBV e OR. As associações entre esses agentes nas duas granjas foram as mais encontradas sugerindo um estudo mais aprofundado no assunto.

## Agradecimentos:

À FAPERJ pelo apoio financeiro e à APTA/Bastos, SP, pelo auxílio na obtenção das amostras.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). *Relatório Anual 2018*. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>> Acesso em: 30 ago, 2018
- GAMA, N.M.S. Laringotraqueíte: o caso brasileiro. In: CONFERÊNCIA APINCO 2004 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Santos, Anais. Santos : FACTA, p. 85-92, 2004.
- MATTHIJS, M. G., ARIAANS, M. P., DWARS, R. M., VAN ECK, J. H., BOUMA, A., STEGEMAN, A., & VERVELDE, L. (2009). Course of infection and immune responses in the respiratory tract of IBV infected broilers after superinfection with *E. coli*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 127(1-2), 77-84.
- PANG, Y., WANG, H., GIRSHICK, T., XIE, Z., & KHAN, M. I. (2002). Development and application of a multiplex polymerase chain reaction for avian respiratory agents. *Avian diseases*, 46 (3), 691-699.





## **Ciências Agrárias – Medicina Veterinária**

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

**Ana Luiza Cunha Bade, Mário Alvarez Balaro, Jeferson Ferreira da Fonseca, Juliana Dantas Rodrigues dos Santos, Felipe Zandonadi Brandão**

**Faculdade de Veterinária /Departamento de Patologia e Clínica 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 realizado.

#### **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

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 eqüina 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

decrecentes (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 em fim 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<sup>-1</sup> e diazepam 0,2 mg.kg<sup>-1</sup> 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.

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 ( $\text{SENS} = \text{VP}/(\text{VP} + \text{FN})$ ), especificidade ( $\text{SPEC} = \text{VN}/(\text{FN} + \text{VN})$ ), valor preditivo positivo ( $\text{VPP} = \text{VP}/(\text{VP} + \text{FP})$ ) e valor

preditivo negativo ( $\text{VPN} = \text{VN}/(\text{FN} + \text{VN})$ ), acurácia ( $\text{Ac} = (\text{VP} + \text{VN})/n$ ), e índice Kappa ( $\kappa$ ).

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 ( $\kappa = 0.52$ ).

## CONCLUSÕES:

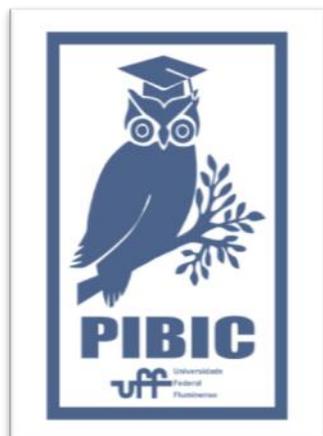
Concluiu-se que o teste de transposição cervical utilizando o dilatador de Hegar tem grande potencial de uso como método para identificar ovelhas doadoras de embriões hábeis para a coleta não cirúrgica de embriões, a partir da alta sensibilidade e acurácia demonstrados nos cálculos.

## 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.), Clínica de Ovinos e Caprinos. São Paulo: Roca, 2005. 513p.
- Oliveira, M.E.F. State-of-the-art in the superovulation of ewes. Acta Scientiarum Veterinariae, v.39, Suppl. 1, p.29-35, 2011.





## Grande área do conhecimento Ciências Agrárias

**Título do Projeto:** Caracterização genotípica da resistência à enrofloxacin em cepas de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* isoladas de frangos de criações orgânicas e convencionais.

**Autores:** Thomas Salles Dias<sup>1</sup>, Regina Júlia Nascimento<sup>1</sup>, Virginia Leo Pereira<sup>2</sup>, Elmiro R. Nascimento<sup>3</sup> e Maria Helena C. Aquino<sup>1</sup>.

**Departamento/Unidade/Laboratório:** <sup>1</sup>Departamento/Unidade/Laboratório: MSV/Faculdade de Veterinária/Laboratório de Doenças Infecciosas dos Animais Domésticos; <sup>2</sup>Laboratório de Sanidade Avícola; <sup>3</sup>Laboratório de Epidemiologia Molecular.

**INTRODUÇÃO:** *Campylobacter* spp., é considerado como um dos principais agentes de gastroenterite no mundo, principalmente em países desenvolvidos (ZHOU et al., 2016). A maioria dos casos de campilobacteriose está associada com a ingestão de carne de frango crua ou mal cozida. A prevalência em carcaças de frango pode variar de 0.29% a 96.7% devido à ocorrência de contaminação cruzada das carcaças com o conteúdo intestinal durante o abate, pois as aves são consideradas seu principal reservatório (AQUINO et al., 2002, GARIN et al. 2012; JUN et al., 2013). Os macrolídeos e as fluoroquinolonas são os antimicrobianos de escolha para o tratamento de casos severos de campilobacteriose humana (SHANE et al., 2017). Estudos apontam a bomba de efluxo (BE) codificada pelos genes *cmeA*, *cmeB* e *cmeC* como um importante artifício na resistência de *Campylobacter* spp. a diversos antimicrobianos (FRASAO et al., 2015, POOLE, 2005), agindo isoladamente ou junto a outro mecanismo. Dentre os mecanismos de resistência, os sistemas de efluxo desempenham papel fundamental na resistência a uma variedade de compostos incluindo a resistência antimicrobiana observada em *Campylobacter* e mediação da resistência aos sais biliares no trato intestinal para posterior colonização no trato intestinal animal sendo essencial para o crescimento de *Campylobacter* (MU, 2013; PUMBWE, 2002). *Phenylalanine Arginine  $\beta$ -Naphthylamide* (PA $\beta$ N) é considerado um Inibidor de Efluxo (IE) de largo espectro (ASKOURA et al., 2011; XING et al., 2014), sendo muito utilizado em ensaios para avaliação da atividade de efluxo em bactérias (MAHAMOUD et al., 2007). Em *Campylobacter*, esse inibidor já foi utilizado com sucesso para a

inibição da Bomba de Efluxo e consequente análise da resistência a fluoroquinolonas (KLANČNIK et al., 2012; MAMELI et al. 2003). Objetivou-se com este estudo investigar a ocorrência da bomba de efluxo CmeABC em 81 cepas de *Campylobacter jejuni* e 78 *C. coli* resistentes à enrofloxacin isoladas de frangos de corte e investigar a atividade desse sistema. A detecção dos genes *cmeA*, *cmeB* e *cmeC* foi feita através da PCR de acordo com Obeng et al. (2012) e a resistência à enrofloxacin foi avaliada pelo método de diluição em ágar, para determinar a concentração inibitória mínima (CLSI, 2013). A atividade da bomba de efluxo CmeABC foi investigada em 20 cepas por meio da utilização do inibidor da bomba de efluxo “*Phenylalanine-Arginine $\beta$ -Naphthylamide*” na determinação da CIM (HUNGARO et al., 2015). O isolamento das cepas foi realizado de acordo com Aquino et al. (2002) e a identificação de espécie foi feita de acordo com Harmon et al. (1997).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

De 62 cecos foram identificadas 23 cepas de *Campylobacter coli* e 7 cepas de *Campylobacter jejuni* confirmadas pela PCR. Além das 30 cepas confirmadas como *C. jejuni* e *C. coli* também foram utilizadas no estudo, amostras de DNA de 55 de cepas de *C. jejuni* e de 25 de *C. coli* obtidas de frangos de criação orgânica e de 30 cepas de *C. coli* e 19 cepas de *C. jejuni* de criação convencional coletadas em matadouro com Serviço de Inspeção Estadual (SIE) do Estado do Rio de Janeiro para o estudo da ocorrência do sistema de efluxo CmeABC. O DNA das cepas estava armazenado a -20°C, no Laboratório de Doenças Infecciosas Animais

Domésticos do Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública da Universidade Federal Fluminense. Todas as 129 cepas possuíam a mutação no gene *gyrA* responsável por conferir resistência às fluoroquinolonas detectada por sequenciamento. Das 159 cepas analisadas, para a presença do sistema de efluxo, foi verificada a presença dos genes *cmeA*, *cmeB* e *cmeC* em 94,3% das cepas. Nove cepas (5,7%) não continham o sistema de efluxo completo. O gene *cmeA* não foi detectado em uma cepa de *C. jejuni* e em uma de *C. coli*. Uma cepa *C. coli*, não possuía os genes *cmeB* e *cmeC*, enquanto outras cinco não apresentaram o gene *cmeB*. Não foi detectado nenhum gene da bomba CmeABC em apenas uma cepa de *C. coli*. Dois sistemas de efluxo envolvidos nos mecanismos de resistência em *Campylobacter* têm sido bem caracterizados, (*Campylobacter multidrug efflux*) CmeABC e CmeDEF, pertencentes ao grupo dependente da força próton motiva, família Resistência-Nodulação-Divisão (RND) (JEON et al. 2011). Os sistemas de efluxo RND contribuem para a resistência intrínseca de *Campylobacter* para uma ampla gama de agentes antimicrobianos estruturalmente não relacionados, podendo adquirir resistência a fluoroquinolonas por superexpressão de proteínas de efluxo ou pela interação sinérgica com mecanismos de resistência a fluoroquinolonas que não de efluxo, tais como mutações no gene *gyrA* (Lin et al. 2002, Luo et al. 2003). Luangtongkum et al. (2009) evidenciaram que o sistema CmeABC funciona sinergicamente ao *gyrA* na mediação da resistência às fluoroquinolonas, enquanto cepas resistentes às fluoroquinolonas sem a mutação Tre-86-Ile já foram observadas (Húngaro et al. 2015), o que também indica a participação de outros mecanismos na resistência. Para identificar a atividade da bomba de efluxo foi utilizado o inibidor Pa $\beta$ N em 20 cepas. A tabela 1 demonstra os resultados de CIM obtidos com e sem o uso do Pa $\beta$ N. Das vinte cepas apenas 5 não tiveram sua CIM alterada pela utilização do Pa $\beta$ N. o que pode sugerir que o sistema de efluxo estava inativo, pois apresentava os genes que codificam a bomba. A participação efetiva do sistema de efluxo CmeABC na resistência às fluoroquinolonas em *Campylobacter* nem sempre é evidenciada. Na avaliação da atividade da bomba de efluxo *Campylobacter* com o uso do inibidor Pa $\beta$ N, foi observada redução da CIM da enrofloxacin de duas a oito vezes em quinze cepas (75%) e em 5 cepas não

foi observada alteração da CIM. Entretanto, apesar dessa redução, oito cepas continuaram resistentes e sete cepas passaram para resistência intermediária.

**Tabela 1.** Concentração inibitória mínima com e sem o uso do inibidor Pa $\beta$ N em 20 cepas de *Campylobacter* spp., seguido da classificação da resistência (CLSI 2013). R= resistente I= intermediário.

Cepa	CIM sem Pa $\beta$ N ( $\mu$ g/mL)	CIM com Pa $\beta$ N ( $\mu$ g/mL)
C6	4 (R)	1 (I)
C10	2 (R)	1 (I)
V4	2 (R)	1 (I)
V7	2 (R)	1 (I)
V11	1 (I)	1 (I)
V12	2 (R)	1 (I)
V14	1 (I)	1 (I)
V16	2 (R)	1 (I)
T3	64 (R)	8 (R)
T5	8 (R)	4 (R)
T6	4 (R)	2 (R)
T10	8 (R)	8 (R)
T11	4 (R)	2 (R)
T13	8 (R)	1 (I)
T14	4 (R)	4 (R)
T17	8 (R)	8 (R)
T20	8 (R)	4 (R)
T21	8 (R)	4 (R)
T23	16 (R)	8 (R)
T25	16 (R)	2 (R)

## CONCLUSÕES:

A presença do sistema de efluxo CmeABC e a evidência da atividade deste sistema nas cepas de *Campylobacter* spp. estudadas, sugere que este seja um mecanismo importante na resistência de *Campylobacter* à enrofloxacin. Entretanto, a ausência do sistema de efluxo completo em cepas resistentes a esse antimicrobiano e a manutenção da CIM com o uso do inibidor PaβN sugerem a participação de outros mecanismos, ou uma atuação sinérgica na resistência à enrofloxacin em *Campylobacter* spp. Sugere-se que o uso de inibidores da bomba de efluxo seja uma ferramenta importante para a redução da resistência antimicrobiana e da colonização de *Campylobacter* spp. nos frangos de corte.

## Agradecimentos:

A PROPPI pela bolsa de iniciação científica.

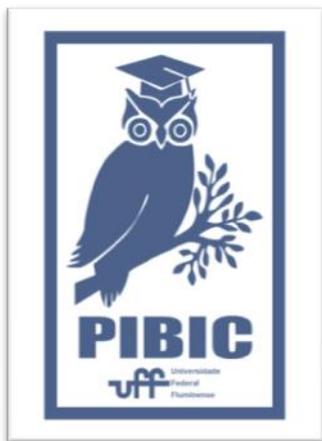


Figure 1: Logo PIBIC