



CIÊNCIAS

AGRÁRIAS



REVISTA PIBIC 2021



CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EFEITO DA PROTEÍNA ANTICONGELANTE TIPO III NA CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN OVINO

THAIS V. BLANCHART, LUCAS F. L. CORREIA, JOANNA M. G. SOUZA-FABJAN

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E CLÍNICA VETERINÁRIA/FACULDADE DE VETERINÁRIA/SETOR DE REPRODUÇÃO ANIMAL

INTRODUÇÃO:

A criopreservação de espermatozoides para inseminação artificial (IA) tem como objetivo a preservação da viabilidade espermática e a fertilização de espermatozoides congelados (CSEH et al., 2012). Entretanto, o processo de congelamento e descongelamento leva a danos no espermatozoide (VICHAS et al., 2017). Dessa forma, são adicionados diluidores de sêmen, que visam a proteção dos gametas contra injúrias causadas principalmente pelo choque frio, estresse osmótico e formação de cristais de gelo intracelular (HEZAVEHEI et al., 2018). Desta maneira, o uso de proteínas anticongelantes tem sido aplicado com o objetivo de reduzir os danos celulares (MAHATABUDDIN; TSUDA, 2018).

As proteínas anticongelantes (AFP, do inglês *antifreeze protein*) são grupos de polipeptídeos produzidos por vertebrados, insetos, fungos, bactérias e plantas e atuam na sobrevivência em temperaturas negativas e agem em soluções diminuindo cineticamente a temperatura de formação de gelo por atividade de histerese térmica, reduzindo o ponto de congelamento sem afetar o ponto de fusão e a pressão osmótica. (KIM et al., 2017). Além

disso, retardam a recristalização e deprimem a temperatura de congelamento abaixo do ponto de fusão (RAHMAN et al., 2019). As AFPs protegem as membranas celulares contra lesões induzidas pelo frio, sendo descrita a suplementação de meios de criopreservação de sêmen (PAYNE et al., 1994; QADEER et al., 2014; NISHIJIMA et al., 2014). Em ovinos, o emprego de AFP na criopreservação de sêmen é pouco descrito na literatura, onde dados escassos apresentam um aumento na motilidade pós-descongelamento de sêmen (PAYNE et al., 1994).

Assim, o objetivo do presente estudo foi determinar o efeito da adição de diferentes concentrações da AFP tipo III na criopreservação de sêmen ovino.

Neste estudo foram utilizados cinco carneiros doadores de sêmen da raça Santa Inês em perfeito estado de saúde e mantidos em sistema de produção de confinamento parcial. O sêmen foi coletado pela técnica de eletroejaculação (ABRIL-SÁNCHEZ et al. 2019).

Após a coleta, foi feito um *pool* das amostras e o sêmen foi avaliado e depois alocado em cada tratamento proposto. O diluidor utilizado foi o Tris-gema acrescido de diferentes concentrações de AFP tipo III: 0,1 e 0,5 µg/mL ou sem adição (controle). Foram realizadas seis sessões de congelamento de sêmen, com envase em palhetas de 0,25 mL, com dose final de 100×10^6 espermatozoides e criopreservado de acordo com Jha et al. (2019).

Após o descongelamento, amostras de cada grupo foram avaliadas para os parâmetros de: motilidade e cinética espermática, integridade de membrana, teste hiposmótico, morfologia e lipoperoxidação (TBARS).

Os dados paramétricos foram submetidos à Análise de variância (ANOVA), seguido de Teste Tukey. Enquanto os dados não paramétricos foram avaliados pelo teste de Kruskal Wallis, seguido do teste de Dunn. Os dados são apresentados em valores de média \pm erro padrão da média.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os valores para os parâmetros espermáticos foram observados antes do congelamento (AC) e imediatamente depois (ID) dos Grupos AFP III 0,1 µg/mL e AFP III 0,5 µg/mL e Controle (CONT). Não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) nos grupos experimentais no momento AC. No momento ID, houve diferença significativa em parâmetros cinéticos e de morfologia espermática (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros espermáticos avaliados depois da diluição antes do congelamento (AC) e imediatamente depois (ID) em sêmen ovino criopreservado com a adição de AFP III.

		CONT	AFP III 0,1 µg/mL	AFP III 0,5 µg/mL
Motilidade total (%)	AC	96,0 \pm 3,0 ^a	93,9 \pm 3,0 ^a	95,3 \pm 2,6 ^a
	ID	30,0 \pm 2,1 ^a	13,7 \pm 1,4 ^b	25,0 \pm 2,3 ^a
Motilidade Progressiva (%)	AC	25,2 \pm 4,0 ^a	30,0 \pm 4,8 ^a	25,4 \pm 4,8 ^a
	ID	1,6 \pm 0,3 ^a	2,1 \pm 0,5 ^a	2,4 \pm 0,4 ^a
Espermatozoide com velocidade rápida (%)	AC	64,8 \pm 4,8 ^a	59,6 \pm 7,1 ^a	55,3 \pm 10,0 ^a
	ID	4,8 \pm 1,1 ^a	1,5 \pm 0,6 ^a	2,5 \pm 1,1 ^a
Espermatozoide com velocidade média (%)	AC	22,2 \pm 4,2 ^a	24,7 \pm 7,5 ^a	24,1 \pm 7,5 ^a
	ID	1,6 \pm 0,2 ^a	1,6 \pm 0,3 ^a	2,4 \pm 0,5 ^a
Espermatozoide com velocidade lenta (%)	AC	10,3 \pm 2,6 ^a	12,7 \pm 2,2 ^a	11,7 \pm 2,5 ^a
	ID	24,1 \pm 1,1 ^a	8,8 \pm 0,6 ^b	17,3 \pm 1,3 ^c
Integridade de membrana (%)	AC	63,9 \pm 7,6 ^a	58,9 \pm 3,2 ^a	58,2 \pm 1,4 ^a
	ID	13,0 \pm 4,4 ^a	19,8 \pm 3,6 ^a	21,8 \pm 4,0 ^a
Teste Hiposmótico (%)	AC	85,3 \pm 1,4 ^a	81,6 \pm 4,6 ^a	87,4 \pm 0,3 ^a
	ID	13,6 \pm 2,6 ^a	15,7 \pm 3,8 ^a	11,9 \pm 1,8 ^a
Morfologia normal (%)	ID	65,3 \pm 1,9 ^a	73,8 \pm 1,6 ^b	74,8 \pm 0,5 ^b
	TBARS (ng/mL)	ID	567,2 \pm 20,0 ^a	544,0 \pm 15,6 ^a

Valores com sobrescritos diferentes diferem significativamente na mesma linha ($p < 0,05$).

CONCLUSÕES:

Neste estudo, a AFP promoveu uma melhor proteção celular durante a criopreservação. Entretanto, a concentração utilizada deve ser levada em consideração. Assim, os resultados obtidos possibilitam explorar o uso de AFP como potencial crioprotetor em sêmen ovino.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ABRIL-SÁNCHEZ, S., FREITAS-DE-MELO, A., GIRIBONI, J., SANTIAGO-MORENO, J.; UNGERFELD, R. (2019). Sperm collection by electroejaculation in small ruminants: A review on welfare problems and alternative techniques. *Animal Reproduction Science*, 205, 1–9.

CSEH, S.; FAIGL, V.; AMIRIDIS, G. S. (2012). Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 130, 187-192.

HEZAVEHEI, M.; SHARAFI, M.; KOUCHESFAHANI, H. M.; HENKEL, R.; AGARWAL, A.; ESMAEILI, V.; SHAHVERDI, A. (2018). Sperm cryopreservation: A review on current molecular cryobiology and advanced approaches. *Reproductive BioMedicine Online*, 37, 327-339.

JHA, P. K.; ALAM, M. G. S.; MANSUR, A .AL; NAHER, N.; ISLAM, T.; BHUIYAN, M. U.; BARI, F. Y. (2019). Cryopreservation of Bangladeshi ram semen using different diluents and manual freezing techniques. *Cryobiology*, 89, 35-41.

KIM, H. J.; LEE, J. H.; HUR, Y. B.; LEE, C. W.; PARK, S. H.; KOO, B. W. (2017). Marine Antifreeze Proteins: Structure, Function, and Application to Cryopreservation as a Potential Cryoprotectant. *Marine Drugs*, 15, E27.

MAHATABUDDIN, S.; TSUDA, S. (2018). Applications of Antifreeze Proteins: Practical Use of the Quality Products from Japanese Fishes. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1081, 321-337.

NISHIJIMA, K.; TANAKA, M.; SAKAI, Y.; KOSHIMOTO, C.; MORIMOTO, M.;

WATANABE, T.; FAN, J.; KITAJIMA, S. (2014). Effects of type III antifreeze protein on sperm and embryo cryopreservation in rabbit. *Cryobiology*, 69, 22–25.

PAYNE, S. R.; OLIVER, J. E.; UPRETI, G. C. (1994). Effect of antifreeze proteins on the motility of ram sperm. *Cryobiology*, 31, 180–184.

QADEER, S.; KHAN, M. A.; ANSARI, M. S.; RAKHA, B. A.; EJAZ, R.; HUSNA, A. U.; ASHIQ, M.; IQBAL, N.; AKHTER, S. (2014). Evaluation of antifreeze protein III for cryopreservation of Nili-Ravi (*Bubalus bubalis*) buffalo bull sperm. *Animal Reproduction Science*, 148, 26–33.

RAHMAN, A. T.; ARAI, T.; YAMAUCHI, A.; MIURA, A.; KONDO, H.; OHYAMA, Y.; TSUDA, S. (2019). Ice recrystallization is strongly inhibited when antifreeze proteins bind to multiple ice planes. *Scientific Reports*, 9; 2212.

VICHAS, L.; TSAKMAKIDIS, I. A.; VAFIADIS, D.; TSOUSIS, G.; MALAMA, E.; BOSCOS, C. M. (2017). The effect of antioxidant agents addition and freezing method on quality parameters of frozen thawed ram. *Cell Tissue Bank*, 19, 113-121.

AGRADECIMENTOS:

FAPERJ, CNPq e à PROPPI.



CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EFEITO DA ADIÇÃO DA PROTEÍNA ANTICONGELANTE TIPO I (AFPI) NA QUALIDADE DE ESPERMATOZOIDES PÓS AQUECIMENTO DE GATOS DOMÉSTICOS

BEATRIZ M. ZAPPA, LETICIA P. ALCARÁZ, JOANNA M. G. SOUZA-FABJAN

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E CLÍNICA VETERINÁRIA/FACULDADE DE VETERINÁRIA/SETOR DE REPRODUÇÃO ANIMAL

INTRODUÇÃO:

No Brasil, grande parte dos felinos selvagens estão vulneráveis ou ameaçados de extinção e a escassez de amostras prejudica o estabelecimento dos protocolos de reprodução assistida. Dessa forma, os gatos domésticos podem ser utilizados como modelo experimental por conta de similaridades gênicas.

A criopreservação de sêmen, apesar de permitir estocagem do material biológico por um longo período, é marcada por perda da motilidade e viabilidade, além de causar danos à estrutura celular. Alguns artigos em bovinos e ovinos indicam que o uso de crioprotetores, como as proteínas anticongelantes tipo I (AFPI), aumentam a eficiência da técnica ao reduzir esses danos. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos pós descongelamento da suplementação de 0,1 e 0,5 µg/mL de AFPI no meio de criopreservação de sêmen em gatos domésticos.

Um total de 86 gatos foram submetidos a orquiectomia eletiva, em nove replicadas, cada uma contendo de sete a 13 animais.

A coleta foi realizada através de *slicing* da cauda do epidídimo em Tris-base [3,025 g TRIS, 1,4% ácido cítrico, 0,8% glicose, 0,1% solução antibiótica e antimicótica (estreptomicina, penicilina e anfotericina B), em água MilliQ] (CHATDARONG, 2010). Foram realizadas avaliações de motilidade e vigor de cada amostra, sendo incluídas somente as que apresentaram valores a partir de 50% e 3, respectivamente. Em seguida, após agrupamento e formação de um *pool*, avaliou-se a concentração para determinar a quantidade de diluidor a ser adicionada. Este *pool* foi subdividido em três grupos experimentais, de acordo com a concentração final de AFPI: 0 µg/mL (Controle), 0,1 µg/mL e 0,5 µg/mL. Assim, as amostras foram centrifugadas a 700x g por 6 min, o sobrenadante foi removido e o Diluidor I (mesma composição de Tris-Base, acrescido de 3% glicerol, 20% gema de ovo e AFPI) adicionado a cada grupo, sendo mantidas à 4 °C por 1 h. Depois, o Diluidor II [mesma composição do Diluidor I, acrescido de 7% glicerol e 0,6% de dodecil sulfato de sódio (SDS)] foi adicionado e as palhetas de 0,25 mL foram preenchidas e mantidas novamente por 1 h

à 4 °C para equilíbrio do meio, considerando a concentração final de 25×10^6 espermatozoides/mL. Em seguida, as palhetas foram mantidas 7 cm acima do nível do nitrogênio líquido por 10 min e imediatamente imersas.

Para o aquecimento, as palhetas foram imersas em banho-maria por 30 s. Em seguida, as análises de motilidade, integridade de membrana (teste hiposmótico), atividade mitocondrial (1 mg/mL de 3,3'-Diaminobenzidina - DAB) vitalidade e morfologia (eosina 3%/nigrosina 8%), condensação de cromatina (azul de anilina ácida 5%), viabilidade e *status* acrossomal (Giemsa 10%/Azul de Tripán 0,2%), cinética espermática (*computer-assisted sperm analysis* – CASA), e teste de ligação a membrana perivitelínea do ovo foram realizadas. Todas as análises foram realizadas em microscopia de contraste de fase, com exceção da cinética, atividade mitocondrial e ligação à membrana, que foram realizadas em microscópio de epifluorescência. Os dados foram analisados através do software IBM SPSS 25 e observados pela média \pm SEM. Valores de $P < 0.05$ foram considerados estatisticamente significativo e àqueles $0.10 \leq P < 0.05$ considerados como tendência.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Em relação às análises a fresco, foram obtidos: $69,4 \pm 2,3\%$ de motilidade, $49,3 \pm 5,7 \times 10^6$ (espermatozoides/mL), $2,7 \pm 0,4$ mL de volume e $91,5 \pm 7,6 \times 10^6$ de espermatozoides totais.

Após o aquecimento, a suplementação de 0,1 $\mu\text{g/mL}$ apresentou maior porcentagem de espermatozoides vivos com acrossoma intacto, sendo igual ao grupo controle, porém superior à 0,5 $\mu\text{g/mL}$ ($P=0,037$). O grupo 0,5 $\mu\text{g/mL}$ apresentou uma redução significativa na categoria DAB III (menos de 50%) e tendência ($P = 0,053$) em DAB II (mais que 50% das mitocôndrias ativas) quando comparadas ao grupo controle. Outros parâmetros não apresentaram diferença estatística.

A AFPI apresenta resultados benéficos para os espermatozoides de bovinos e ovinos. Entretanto, assim como este estudo em gatos, os resultados também não são promissores em camundongos. Correlacionando ambos os estudos, hipotetiza-se que felinos e camundongos podem apresentar dados similares devido ao possível mecanismo de ação da AFPI e o tamanho da cabeça dos espermatozoides das duas espécies. Além disso, o resultado apresentado ainda pode ser efeito de particularidades dos espermatozoides felinos. Ademais, é possível que o uso de SDS no meio de congelamento pode ter afetado a estrutura principal da AFPI, que pode explicar a ausência de efeitos obtidos.

CONCLUSÕES:

A suplementação de 0,1 ou 0,5 $\mu\text{g/mL}$ de AFPI não foi capaz de produzir efeito benéfico para a criopreservação de espermatozoides do epidídimo de gatos domésticos.

AGRADECIMENTOS:

FAPERJ e à PROPPI.

REFERÊNCIAS:

CHATDARONG, K, THUWANUT, P, MANEE-IN, S, LOHACHIT, C, AXNÉR, E (2010). Effects of thawing temperature and post-thaw dilution on the quality of cat spermatozoa. *Reprod Domest Anim*, 45: 221–227.



Ciências Agrárias

Frequência e resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* dos patótipos EPEC e STEC isolados de frangos de corte convencionais e orgânicos

Gislany Alves Costa, Hugo Peralva Lopes, Leandro dos Santos Machado, Arthur de Almeida Figueira, Thomas Salles Dias, Nathalie Costa da Cunha, Virginia Léo de Almeida Pereira e Dayse Lima da Costa Abreu

Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública – MSV/ Faculdade de Veterinária / Laboratório de Sanidade Avícola

INTRODUÇÃO:

Escherichia coli Enteropatogênica (EPEC) e Shigatoxigênica (STEC) estão entre os principais agentes de Doenças Transmitidas por Alimentos e são frequentemente isolados de aves e produtos avícolas (ALONSO et al., 2012; DUTTA et al., 2011; DOREGIRAE et al., 2016; VIDAL et al., 2005). Além da presença de cepas enteropatogênicas, cepas resistentes a múltiplos antimicrobianos tem sido motivo de preocupação em setores da saúde porque podem comprometer o tratamento de infecções bacterianas em humanos. Considera-se que o uso de antimicrobianos na produção animal possa contribuir para a seleção de bactérias resistentes que podem contaminar o produto final e representar um risco à saúde do consumidor (JAFARI et al., 2009). Na criação comercial de frangos de corte o uso de antimicrobianos é permitido, exceto os proibidos pela legislação (BRASIL, 2017). Na produção de frango orgânico seu uso é proibido (BRASIL, 2011). O objetivo deste trabalho foi avaliar a frequência de cepas de *E. coli* EPEC e STEC, isoladas de frangos de corte convencionais e orgânicos e sua resistência aos

antimicrobianos. Para este estudo, o conteúdo cloacal e as carcaças de frangos foram coletadas em seis abatedouros com Inspeção Estadual (SIE), no leste e sul do estado do Rio de Janeiro. Foram analisadas 60 amostras de cloaca e 60 carcaças de frangos convencionais e 40 amostras cloaca e 40 carcaças de frangos orgânicos. O material cloacal foi coletado antes da pendura, com suabes, e acondicionados em tubos com meio Cary Blair. As carcaças foram selecionadas dos mesmos lotes, retiradas da nória após o gotejamento e acondicionadas em sacos esterilizados. As cepas de *E. coli* foram isoladas pelo método bacteriológico convencional (MACFADDIN, 2000) e os genes de virulência, que caracterizam as cepas diarreio gênicas EPEC (genes *eae* e *bfp*) e STEC (genes *stx1* e *stx2*), foram detectados pela PCR usando *primers* específicos (DUTTA et al., 2011; VIDAL et al., 2005). Das cepas identificadas como EPEC e STEC foi realizado o teste de disco difusão para avaliação fenotípica de resistência à Tetraciclina (TET), Gentamicina (GEN), Enrofloxacina (ENO), Ceftriaxona (CTX) e Amoxicilina+Clavulanato (AMC) (CLSI, 2013).

Utilizou-se o teste Exato de *Fisher*, com nível de significância de 0,05, para comparação entre as fontes cloaca e carcaça.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram isoladas 171 cepas de *E. coli* de frango convencional (80 de cloaca e 91 de carcaça) e 80 de frango orgânico (40 de cloaca e 40 de carcaça). Cepas do patotipo EPEC e STEC foram isoladas apenas de frangos convencionais. A proibição do uso de antimicrobianos na criação orgânica (BRASIL, 2011) pode ajudar na manutenção de uma microbiota que atue de forma competitiva sobre a microbiota patogênica (PRAXEDES et al, 2012). Das 171 cepas isoladas, 33,34% (57) foram caracterizadas como EPEC, por carregarem o gene *eae* (DUTTA et al., 2011) e 21,05% (36) como STEC, por carregarem os genes *stx-1* e/ou *stx-2* (VIDAL et al., 2005), (36/171). Dentre as cepas STEC, 47,22% (17/36) eram de conteúdo cloacal e 52,78% (19/36) de carcaças. Não houve diferença estatística, pelo teste exato de *Fisher*, entre as fontes cloaca e carcaça ($p > 0,05$). Em aves e produtos avícolas, cepas do patotipo EPEC tem ocorrido com maior frequência em relação às

cepas STEC, como encontrado neste estudo. No entanto, o percentual de cepas, tanto EPEC quanto STEC foi maior do que o relatado por outros autores (ALONSO, et al., 2012; DUTTA, et al., 2011; DOREGIRAE, et al., 2016). Das 171 cepas isoladas de frangos convencionais 60,82% (104) foram resistentes à TET, 18,13% (31) à GEN, 35,09% (60) à ENO, 19,30% (33) à CTX e 8,77% (15) à AMO. Das 80 cepas de frango orgânico 36,25% (29) foram resistentes à TET, 1,25% (1) à GEN e 7,50% (6) à ENO. Todas as cepas isoladas de frangos orgânicos foram sensíveis à CTX e AMO. Entre as cepas EPEC foram produzidos 12 diferentes perfis de resistência, sendo multirresistentes, ou seja, resistentes a mais de 3 antimicrobianos, três cepas isoladas de cloaca. Entre as cepas STEC nenhuma apresentou perfil de multiresistência.

CONCLUSÕES:

Foi possível caracterizar a presença dos patotipos EPEC e STEC apenas em carcaças e frangos de corte criados de maneira convencional. As cepas do patotipo EPEC foram mais frequentes em relação as do patotipo STEC. Apenas as cepas EPEC apresentaram um perfil de multiresistência.

Tabela 1: Perfil de resistência de capas de Escherichia coli dos patótipos EPEC isoladas de cloaca e carcaças de frango

Perfis de Resistência	Frango Convencional				Frango Orgânico				Total
	EPEC		STEC		EPEC		STEC		
	Cloaca	Carcaça	Cloaca	Carcaça	Cloaca	Carcaça	Cloaca	Carcaça	
AMC	-	1	-	-	-	-	-	-	1
TET	12	13	4	4	-	-	-	-	33
GEN	1	2	1	-	-	-	-	-	4
CTX	1	2	-	-	-	-	-	-	3
TET/GEN	3	2	-	1	-	-	-	-	6
TET/ENO	3	-	7	1	-	-	-	-	11
GEN/CTX	1	-	-	-	-	-	-	-	1
ENO/CTX	-	3	-	-	-	-	-	-	3
ENO/AMC	-	3	-	-	-	-	-	-	3
AMC/CTX	-	-	-	1	-	-	-	-	1
GEN/ENO/CTX	1	-	-	-	-	-	-	-	1
TET/ENO/AMC	1	-	-	-	-	-	-	-	1
TET/GEN/ENO/CTX	1	-	-	-	-	-	-	-	1

REFERÊNCIAS

ASLAM, M. et al. Int. J. Food Microbiol., v.177, p. 49-56, 2014.

ALONSO, M. Z. et al. Food Control., v.23, n. 2, p.351-355, 2012.

BRASIL, MAPA. Substâncias proibidas. Disponível em: < [https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/arquivos-de-insumospecuarios/ Substanciasproibidas_20.02.2020.pdf](https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/arquivos-de-insumospecuarios/Substanciasproibidas_20.02.2020.pdf)>. Acesso em 10/08/2021.

BRASIL, MAPA. IN Nº 46, 06/10/2011, Diário Oficial da União, 07/10/2011 - Seção 1.

CLSI. Clinical and Laboratory Standard Institute, M100-S23. 2013.

CUNHA, M.P.V. et al. Sci. World J., v. 8, n.2., 2014.

DUTTA, et al. J. Med. Res. v. 133, n.5, p. 541–545, 2011.

DOREGIRAE, et al. Gastroenterol. Hepatol., v. 9, n. 1, p. 53-57, 2016.

JAFARI, F., et al. Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol. v. 20, n.3, p.56-62, 2009.

PRAXEDES, C. I. S. et al. Rev. Bras. Ciênc. Vet., v. 19, n. 1, p. 46–49, 2012.

VIDAL, M. et al. J. Clin. Microbiol. v. 43, n. 10, p. 5362-5365, 2005.



Ciências Agrárias

PARÂMETROS DE DESEMPENHO ESPORTIVO

**ASSOCIADOS AO ESTUDO DO GENE *ACTN3* EM EQUINOS
DA RAÇA BRASILEIRO DE HIPISMO**

**Giullia Buriti Meriade, Ana Maria Reis Ferreira, Felipe
Gomes Ferreira Padilha**

Faculdade de Veterinária – UFF/ Departamento de Patologia

e Clínica Veterinária/ Laboratório de Anatomia Patológica Veterinária

INTRODUÇÃO:

Os esportes equestres são cada vez mais populares no Brasil e servem de orgulho nacional. O padrão racial é importante na seleção de cavalos mais aptos à prática esportiva. O exercício físico desencadeia respostas biológicas que podem ser acompanhadas por meios diagnósticos. A alfa-actinina-3 (*ACTN3*) é uma proteína expressa em fibras musculares rápidas e desempenha papel fundamental na geração de força. O objetivo deste trabalho foi avaliar a constituição física, a bioquímica sérica e o desempenho em esteira de alta velocidade associando ao estudo de polimorfismos no gene *ACTN3* de equinos atletas da raça Brasileiro de Hipismo em treinamento com a finalidade de identificar quais seriam os parâmetros que estariam influenciando o desempenho do animal.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram avaliadas 18 medidas lineares e 8 medidas angulares de 14 equinos da raça Brasileiro de Hipismo. As médias e desvios padrões foram em metros: altura na cernelha: $1,61 \pm 0,04$; altura na garupa: $1,63 \pm 0,04$; altura do costado: $0,69 \pm 0,02$; comprimento do corpo:

$1,60 \pm 0,07$; comprimento da garupa: $0,52 \pm 0,03$; comprimento da escápula: $0,53 \pm 0,02$; comprimento do pescoço: $0,69 \pm 0,04$ m; comprimento da cabeça: $0,63 \pm 0,02$; largura da cabeça: $0,22 \pm 0,01$; largura do peito: $0,43 \pm 0,02$; largura da anca: $0,55 \pm 0,02$; distância do codilho ao solo: $0,92 \pm 0,03$; vazio subesternal: $0,86 \pm 0,02$; perímetro torácico: $1,84 \pm 0,05$; perímetro do antebraço: $0,40 \pm 0,03$; perímetro do joelho: $0,34 \pm 0,03$; perímetro do boleto: $0,28 \pm 0,01$; e perímetro da canela: $0,21 \pm 0,01$. Os cavalos foram como classificados como *Downhill* (altura na garupa maior que a altura na cernelha), explicada pela grande utilização dos membros posteriores para impulsão. Os demais valores encontrados estão de acordo com o observado para a raça.

A avaliação das medidas angulares resultou em: ângulo escápulo-solo: $70,93 \pm 3,58^\circ$; ângulo escápulo-umeral: $98,93 \pm 5,46^\circ$; ângulo úmero-radial: $145,57 \pm 5,85^\circ$; ângulo metacarpo-falangeano: $149,93 \pm 5,69^\circ$; ângulo coxal-solo: $27,57 \pm 3,46^\circ$; ângulo coxofemoral: $78,07 \pm 5,62^\circ$; ângulo fêmur-tibial: $109,29 \pm 4,53^\circ$ e ângulo tíbio-metatarsiano: $147,43 \pm 3,39^\circ$.

As médias e desvios padrões dos índices zootécnicos calculados foram: relação entre

altura da cernelha e da garupa: $0,99 \pm 0,02$; índice de conformação: $2,10 \pm 0,08$; índice de carga 2: $199,83 \pm 7,85$ Kg; índice de carga 1: $117,79 \pm 4,63$ Kg; índice peitoral: $0,8 \pm 0,03$ e índice corporal relativo: $98,87 \pm 3,25$. O peso estimado médio dos animais submetidos à pesquisa foi de $501,95 \pm 34,02$ Kg, cuja categoria é se enquadra em equinos médios ou eumétricos. Esta classificação correspondeu a 86% dos equinos selecionados, enquanto 14% foram classificados como grandes ou hipermétricos. Todos os animais estudados foram classificados longilíneos na determinação do índice torácico. De acordo com os valores encontrados dos demais índices os cavalos foram classificados como: índice de compacidade 2 (ICO2): tração ligeira (86%) e animal de sela (14%); índice de compacidade 1 (ICO1): tração ligeira (64%) e tração pesada (36%); índice dáctilo-torácico: cavalo de sela (50%), cavalo de tração pesada (29%), fora dos padrões (14%) e cavalo pequeno (7%); índice corporal: brevilíneo (29%) e longilíneo (29%), mediolíneo (43%) e índice meloscópico: brevilíneo (64%), longilíneo (29%) e mediolíneo (7%) .

A avaliação da condição corporal obteve como resultados: peso: $494,07 \pm 35,22$ kg; medida de capa de gordura subcutânea na altura da garupa: $0,44 \pm 0,22$ cm; porcentagem de gordura corporal: $4,71 \pm 1,33$ %; massa gorda: $24,19 \pm 6,87$ kg e massa magra: $469,88 \pm 32,063$ kg. O baixo depósito de gordura pode ser justificado pelo programa de treinamento esportivo.

O tempo médio em que os animais permaneceram em exercício em esteira de alta

velocidade até a fadiga foi de $279,86 \pm 72,53$ segundos. As médias e desvios padrões para as análises bioquímicas basais foram de: AST: $298,21 \pm 84,24$ U/L; CK: $174,21 \pm 28,42$ U/L; uréia: $28,86 \pm 7,09$ mg/dl; creatinina: $1,45 \pm 0,19$ mg/dl; ALT: $5,57 \pm 1,22$ U/L; GGT: $11,64 \pm 2,56$ U/L; albumina: $2,87 \pm 0,15$ g/dl e cálcio: $13,25 \pm 0,58$ mg/dl. Os parâmetros bioquímicos observados estão dentro do intervalo de referência para a espécie.

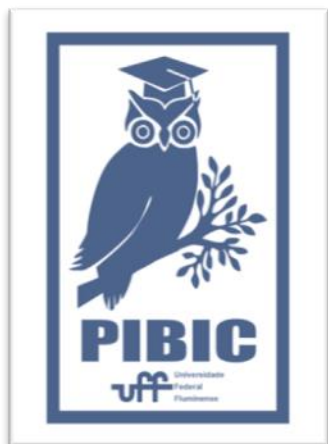
Foi realizado o estudo de possíveis polimorfismos no gene *ACTN3* equino. Na análise do éxon 15 do gene e limites íntron-éxon, foi constatada uma variante no íntron 14-15 c.1681-86G>A, indicando que 14% dos animais apresentaram alelo A em homozigose (AA), 36% dos cavalos heterozigotos (GA) e, 50% com o alelo G em homozigose (GG). Foi encontrada ainda uma outra variante na posição c.1681-129delA. As frequências dos resultados observados indicam que 71% do grupo de equinos utilizado apresentou genótipo del/del, enquanto 29%, wt/del.

CONCLUSÕES:

Os equinos atletas da raça Brasileiro de Hipismo em treinamento apresentaram padrão *downhill* e baixo depósito de gordura corporal. Os valores padrões basais da bioquímica sérica dos parâmetros estudados encontraram-se dentro intervalo de referência para a espécie. Foram descritos dois polimorfismos à análise do gene *ACTN3* equinos de posição c.1681-86G>A e c.1681-129delA.

AGRADECIMENTOS:

Reconhecemos e agradecemos o apoio oferecido do CNPq, da UFF e do PIBIC pela realização das pesquisas.





Grande área do conhecimento: Ciências agrárias

Título do Projeto: IDENTIFICAÇÃO DE *Mycoplasma gallisepticum* E VÍRUS DA LARINGOTRAQUEÍTE INFECCIOSA DAS GALINHAS EM POEDEIRAS COMERCIAIS NO ESTADO DE SÃO PAULO.

Autores: LOPES, J.S.¹; FIGUEIRA, A.A.¹, DIAS, T.S.²; ABREU, D.L.C.²; PEREIRA, V.L.A.²; CUNHA, C.C.; NASCIMENTO, E.R.², MACHADO, L.S.²

¹Universidade Federal Fluminense

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

Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública (MSV)/Faculdade de Veterinária/Laboratório de Epidemiologia Molecular

INTRODUÇÃO:

A avicultura de postura brasileira tem evoluído muito nos últimos anos e o consumo interno vem apresentando aumento anualmente (ABPA, 2020). A região de Bastos, Estado de São Paulo destaca-se pela alta produção de ovos, sendo caracterizada por criações intensivas com variados níveis de biossegurança, alta densidade populacional de aves e galpões de múltiplas idades (CORREZOLA et al., 2012). Estas características contribuem, entretanto, para o aumento do risco de disseminação das doenças infecciosas respiratórias (HUTON et al., 2017, PANG, 2002).

Dentre os microrganismos associados à doença respiratória nas regiões de criação de poedeiras comerciais destacam-se *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e o vírus da laringotraqueíte infecciosa das galinhas (VLT), podendo agir isoladamente ou sinergicamente causando quadro respiratório variando de brando a grave (NASCIMENTO et al., 2020, GOWTHAMAN et al., 2020; YADAV et al. 2021). Muitos estudos

demonstram a circulação de cepas de VLT em Bastos mesmo com a adoção de medidas preventivas e constante vacinação das aves, colocando em risco a produção avícola nacional (CHACON et al., 2007; CHACÓN et al. 2015; PARRA et al., 2016). No diagnóstico das infecções respiratórias, a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) tem sido amplamente utilizada por ser um ensaio sensível, específico, possuir a capacidade na diferenciação entre cepas de campo e vacinais, além de rapidez na liberação de resultados (PANG, 2002, CALLISON et al., 2007; BUIM et al., 2009). Diante disso, este estudo tem como finalidade identificar a presença e associação de MG e VLT em granjas de galinhas poedeiras comerciais na região de Bastos-SP.

Sendo assim, 139 amostras de galinhas, apresentando histórico de quadro respiratório, oriundas de seis granjas de poedeiras comerciais, foram avaliadas para MG e VLT. As amostras foram obtidas com o auxílio de suabe de traqueia e de cada granja foram analisadas duas fases de criação (recria e produção).

Todas as amostras foram submetidas a extração do DNA de acordo com Sambrook e Rusell (2006) e quantificadas em Biodrop Touch™. Posteriormente as amostras foram submetidas a Nested-PCR para MG, segundo a Nascimento e Yamamoto (1991) e Nascimento et al (2005) e Nested-PCR para VLTi segundo Chacón et al (2007). Os produtos da PCR foram aplicados em gel de agarose a 1,5% e submetidas a uma voltagem adequada às dimensões do gel (1 a 10V/cm de gel). A visualização dos “amplicons” foi realizada sob luz ultravioleta em transiluminador após ser submetido a uma solução de brometo de etídio a uma concentração final de 0,5 µl/ml.

Quadro 1. Identificação das granjas, lotes, idades das aves e fase de criação submetidas à detecção de *M. gallisepticum* (MG) e vírus da Laringotraqueíte Infeciosa das Galinhas (VLTi) em galinhas de postura comercial no município de Bastos, SP.

Granjas	Lotes	Idade (em semanas)	Fase de criação
A	1	16	Recria
	2	35	Produção
B	1	22	Recria
	2	31	Produção
C	1	16	Recria
	2	24	Produção
D	1	38	Produção
	2	22	Recria
E	1	20	Recria
	2	28	Produção
F	1	8	Recria
	2	15	
	3	21	Produção
	4	28	

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Do total de 139 amostras de traqueia obtidas com auxílio de suabes de seis granjas de poedeiras comerciais localizadas em Bastos, SP, 25,89% (36/139) apresentaram resultado positivo para MG e 4,32% (6/139) foram positivas para VLTi à Nested-PCR.

Em relação a MG, a granja D destacou-se com a frequência de 45% (9/20), seguido das granjas A e B com 30% (6/20) cada uma, C com 21,05% (4/19), E com 20% (4/20) e F com 17,5% (7/40). Já para VLTi, a granja A apresentou a maior frequência de 20% (4/20), seguido das granjas B e E com 5% (1/20) as duas. As granjas C, D, F não apresentaram galinhas positivas para VLTi.

Observou-se associação entre MG e VLTi nas granjas A, B e E. A granja A apresentou percentual de 10% (2/20) enquanto as granjas B e E apresentaram 5% (1/20).

Em relação as fases de criação, MG apresentou maior prevalência na fase de produção com 31,43 % (22/69) em comparação a recria com 20,29% (12/69), enquanto VLTi demonstrou maior percentual na recria com 5,8% (4/69) em relação a produção com 2,86% (2/70). A única granja que apresentou positividade a VLTi na fase de recria foi a granja A com 40% (4/10).

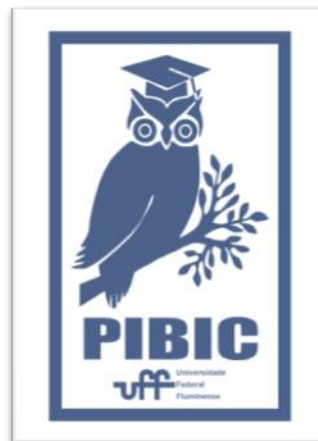
CONCLUSÕES:

Foram observadas altas prevalências de MG nas granjas de poedeiras avaliadas na região centro-oeste de São Paulo, Brasil. O VLTi foi detectado em granjas analisadas no estudo, demonstrando a circulação de cepas do vírus na

região. Foi possível observar o sinergismo entre MG e VLTl.

AGRADECIMENTOS:

Ao apoio da Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Inovação da Universidade Federal Fluminense (PROPPI/UFF)





Grande Área de Conhecimento: Ciências Agrárias

***Carapichea ipecacuanha* ALTERA SUA ATIVIDADE FOTOQUÍMICA SOB ESTRESSE LUMINOSO**

Daniela Marques Correia, Cristina Moll Hüther, Vitor Francisco Ferreira, Junior Borella, Julia Ramos de Oliveira, Natália Fernandes Rodrigues, Ramonn Diego Barros de Almeida, Mariana de Oliveira Pereira, Larissa Quirino da Silva, Glauce Christian Alves Duarte, Elton de Oliveira, Carlos Rodrigues Pereira, Thelma de Barros Machado, Osmar Alves Lameira.

Escola de Engenharia, Departamento de Engenharia Agrícola e Ambiental.

INTRODUÇÃO:

Existem poucos estudos para a planta medicinal *Carapichea ipecacuanha* (ipecacuanha) com relação à sua resposta metabólica em diferentes situações ambientais e manejos (SILVA et al., 2015) que possam contribuir para a demanda da indústria farmacêutica (SILVA et al., 2018). Em adição, estudos com a ipecacuanha podem fornecer alternativas ao extrativismo, como sugestões de manejo para seu cultivo em ambientes artificiais para obtenção de qualidade em materiais, além de contribuir para manutenção de recurso genético dessa espécie.

Assim, o presente trabalho buscou avaliar a atividade fotoquímica da espécie *Carapichea ipecacuanha* submetida ao estresse luminoso por 3 dias.

Para isso, as plantas foram cultivadas em diferentes níveis de sombreamentos (50, 70

e 90%) e em pleno sol. Posteriormente, metade das plantas dos ambientes sombreados foram expostas diretamente à radiação solar por três dias.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os parâmetros biofísicos derivados da fluorescência transiente da clorofila *a* (**Erro! Fonte de referência não encontrada.** A) foram normalizados do estresse luminoso para os controles de cada sombreamento e analisados no tempo 50 μ s a 1s (Figura 1 B) que permitiram distinguir alterações ao longo da cadeia de transporte de elétrons (CTE), como o aumento polifásico da fluorescência para as plantas submetidas à luz solar plena.

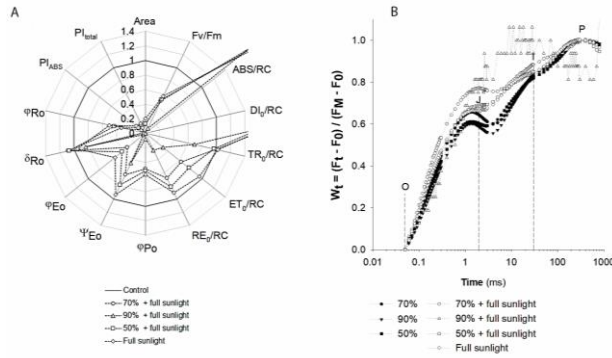


Figura 1: Fluorescência transiente da Chl *a* de folhas de *Carapichea ipecacuanha* adaptadas ao escuro, submetidas à luz solar plena e aos sombreamentos com 3 dias de exposição ao estresse luminoso (A-B). Parâmetros fotossintéticos deduzidos pela análise do teste JIP da fluorescência transiente normalizados usando como referência os controles. (B) fluorescência variável relativa entre as etapas O e P (W_t) em escala de tempo logarítmica. ms = milissegundos.

O aumento acentuado na amplitude da fase JI, ocorreu em todos os tratamentos (Figura 1 B). O efeito do excesso de luminosidade foi evidenciado com precisão no passo J e além disso, para o tratamento com sombreamento de 90% + pleno sol, apresentou grave alteração partindo do ponto J até o P, demonstrando perda completa da curva.

Todos os tratamentos submetidos à luz solar plena, demonstraram transtornos na CTE (Figura 1 A).

A desordem no sistema pode ser verificado pelos parâmetros Área e Fv/Fm , que refletem a eficiência máxima do fotossistema II (FSII) e área complementar total entre a indução da curva de fluorescência F_m , respectivamente, apresentaram redução tempo-dependente para todas as plantas que estavam aclimatadas à sombra e foram repentinamente submetidas à luz solar plena. Quanto maior o nível de sombreamento, maior o foi o nível do impacto, principalmente sobre o FSII, incluindo

os centros de reação e complexos pigmento-proteicos das antenas (Figura 1 A).

Os parâmetros que correspondem aos fluxos específicos das atividades expressas por centro de reação (RC) aumentaram em: (i). ABS/RC , que mensura o tamanho aparente do sistema antena, sendo absorção total ou quantidade de Chl total por RC ativo e (ii). DIO/RC que mede a energia dissipada por calor, não capturada pelo RC, denominado quenching não-fotoquímico (NPQ), para todas as plantas expostas à luz solar plena (Figura 1 A).

Os parâmetros que refletem o fluxo de captura de energia por RC ativo capaz de conduzir até uma redução de Q_A (TR_0/RC); reoxidação de Q_A^- via transporte de elétrons em um centro de reação ativo (ET_0/RC); e redução do acceptor final de elétrons no lado do acceptor de elétrons do FSI por RC (RE_0/RC), apresentaram redução para todos os tratamentos estressados (Figura 1 A).

O efeito negativo do estresse luminoso também foi verificado sobre os parâmetros que descrevem os rendimentos ou taxas de fluxo de elétrons (Φ_{Po} , Ψ_{Eo} , Φ_{Eo} e Φ_{Ro}). Entretanto, para o rendimento quântico de transporte de elétrons de Q_A^- para o acceptor finais de elétrons no FSI (Φ_{Ro}), obteve um incremento nos tratamentos de 90% + pleno sol e pleno sol. Todavia, a eficiência com que um elétron pode mover dos aceptores de elétrons do intersistema reduzidos para os aceptores finais do FSI (δRo) se mantiveram a níveis de controle para todos os tratamentos (Figura 1 A), indicando que o efeito mais específico do estresse luminoso estava relacionado ao FSII, ocasionado um efeito cascata às demais unidades da CTE.

O estresse luminoso reduziu os índices de performance, Plabs e Pltotal, demonstrando uma diminuição na capacidade de conservação de energia nos diferentes locais da maquinaria fotossintética, pois refletem a conservação de energia do exciton capturado até a redução dos aceitadores de elétrons no intersistema (Plabs) e da conservação de energia do exciton para a redução de aceitadores finais do FSI (Pltotal), para todos os tratamentos expostos ao agente estressor, indicando uma redução na funcionalidade da CTE, apresentando maiores declínios para os tratamentos de 50 e 70% + pleno sol (Figura 1 A).

CONCLUSÕES:

As plantas de ipeca são sensíveis à radiação e os mecanismos de fotoproteção dessa espécie não são suficientes para exposição solar direta, pelo tempo analisado, ocasionando um declínio no transporte de elétrons na fotossíntese.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Silva, M.L da, et al., 2015. Morfoanatomia dos sistemas gemíferos de poaia (*Carapichea ipecacuanha* (Brot.) L. andersson) rubiaceae. Revista Fitos 9, 9–17. <https://doi.org/10.5935/2446-4775.20150001>.

Silva, S. et al., 2018. In vitro propagation of *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes under different concentrations of Indoleacetic Acid. Revista Fitos 12, 263-268. <https://doi.org/10.17648/2446-4775.2018.620>.

AGRADECIMENTOS:

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

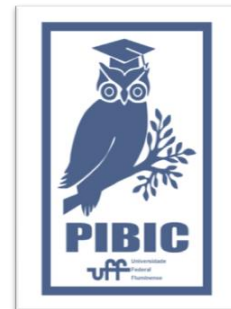


Figura 2: Logo PIBIC



Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias
Título do Projeto: Zonas de Manejo Aplicadas a Pequenas Propriedades Agrícolas no Estado do Rio de Janeiro
Autores: Caio Almeida, Flávio Castro da Silva
Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Engenharia Agrícola e Meio Ambiente/Escola de

Engenharia/Laboratório de Máquinas Agrícolas

INTRODUÇÃO:

A variabilidade espacial dos atributos físicos, químicos e biológicos do solo interfere na produtividade do manejo das culturas, bem como seu crescimento. A preocupação com a dependência espacial e temporal de observações efetuadas para um determinado atributo é muito antiga, sendo comprovado esse fato por trabalhos científicos datados do início do século XX (VIEIRA, 1995).

A utilização de zonas de manejo na agricultura como solução para a variabilidade espacial e temporal dos nutrientes do solo nas propriedades agrícolas é conhecida e estudada desde o século passado, pois com o conhecimento da variabilidade dos atributos do solo é possível otimizar a aplicação de fertilizantes nas áreas mais deficitárias e melhorar as estratégias de amostragem (Bhatti et al., 1991).

Entender como a distribuição espacial desses atributos funciona é importante para o estabelecimento de práticas de manejo adequadas, não exclusivamente para a

otimização da produtividade agrícola, mas também para a minimização de possíveis danos ambientais (ALVES et al. 2013).

Para esse trabalho foi estudada a variabilidade química do solo a partir de uma análise do solo em uma pequena propriedade de São Gonçalo (RJ).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foi realizada a análise química do solo em 26 amostras e mediu-se as concentrações de 12 variáveis, Cálcio (Ca), Potássio (K), Magnésio (Mg), Alumínio (Al), Hidrogênio e Alumínio(H+Al), Soma de Bases Trocáveis (SB), Capacidade de Troca de Cátions (CTC) efetiva (t), Capacidade de Troca de Cátions (CTC) potencial(T), Índice de Saturação de Bases (V), Índice de Saturação de Alumínio (m), Fósforo Remanescente (P-rem), ph em água em solução KCl e CaCl₂ com relação 1:2,5. A necessidade de calagem foi obtida de forma indireta utilizando o método do Manual de Calagem e Adubação do Estado do Rio de Janeiro, totalizando 13 variáveis.

A geoestatística correlaciona os pontos próximos para gerar uma melhor aproximação dos resultados com a realidade com relação a estatística puramente aplicada, pois os elementos dos solos se correlacionam entre si. Para utilizar a geoestatística foram realizados os semivariogramas versus as distâncias das variáveis químicas utilizando o programa RStudio.

Foram utilizados 3 modelos matemáticos ajustados aos semivariogramas, são esses os modelos esférico, exponencial e gaussiano. Utilizando esses modelos matemáticos e a krigagem foi possível obter os mapas de concentração dessas variáveis químicas.

Para análise da normalidade dos dados, pois valores próximos a normalidade geram maior precisão na elaboração dos mapas, foi utilizado o programa Past.

Através da utilização do Past, foi possível analisar que 63,64% das 13 variáveis apresentam normalidade, isso quer dizem assimetria e curtose próximas o suficiente de 0 a 3.

Através do Rstudio foi possível aplicar os 3 modelos matemáticos em todas as 13 variáveis e foi possível obter 39 semivariogramas e após análise foi possível verificar a dependência das variáveis com os pontos próximos e 30 apresentaram forte dependência, 8 apresentaram dependência moderada e apenas 1 apresentou dependência fraca. Para verificar a dependência foi utilizado o grau de dependência, se o grau de dependência for maior que 80 há forte dependência, entre 25 e 80 a dependência é moderada e menor que

25 a dependência é fraca, quando a dependência for fraca não há diferença entre aplicação da estatística e da geoestatística.

Portanto 38 dos mapas produzidos apresentam forte ou moderada dependência com as variáveis químicas próximas, pode-se afirmar que os mapas condizem com a realidade do pequeno produtor que teve os dados analisados.

Para a produtividade da maioria das culturas é necessário o valor de Cálcio e Magnésio somados igual ou superior a $3,0\text{cmol.dm}^{-3}$ e segundo os mapas de Cálcio e Magnésio esse valor é superior na maior parte dos mapas. O alumínio pode ser levemente prejudicial acima de 15% do valor m(%) e esse valor é superior a 15% na parte amarela e branca do mapa de necessidade de calagem.

Nesse resumo será apresentado apenas os 3 mapas de necessidade de calagem, pois os mesmos foram utilizados para concluir o presente trabalho, através desse mapa foi possível obter a valor de cal necessária para aplicação para possível correção do solo.

CONCLUSÕES:

O solo analisado gera produtividades elevadas para a maioria das culturas existentes. Porém há uma área que é necessário aplicar os métodos de calagem, foi analisado a quantidade de cal necessária pelo modelo esférico, exponencial e gaussiano e chegou-se à valores de 0,32, 0,11 e 024 toneladas respectivamente na área que está amarela e branca segundo a figura 1, foi constatado que há variações nesses

valores, logo deve-se adotar o maior valor, pois os valores de curtose e assimetria foram valores superiores a 3.

Acredito que esse trabalho possa ser utilizado para ajudar pequenos produtores do Rio de Janeiro a conhecer melhor o seu solo, aumentar a produtividade e gerar melhores alimentos para a população.

AGRADECIMENTOS:

Quero agradecer aos meus pais por terem me criado e sem eles eu nem estaria na universidade, muito menos produzindo esse trabalho, quero agradecer ao meu orientador que me ajudou muito durante a graduação e principalmente na produção desse trabalho, quero agradecer a minha filha, pois tudo que eu faço nessa vida é para ela.

Agradeço muito a Universidade Federal Fluminense (UFF) e aos Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) pela concessão da bolsa de Iniciação Científica

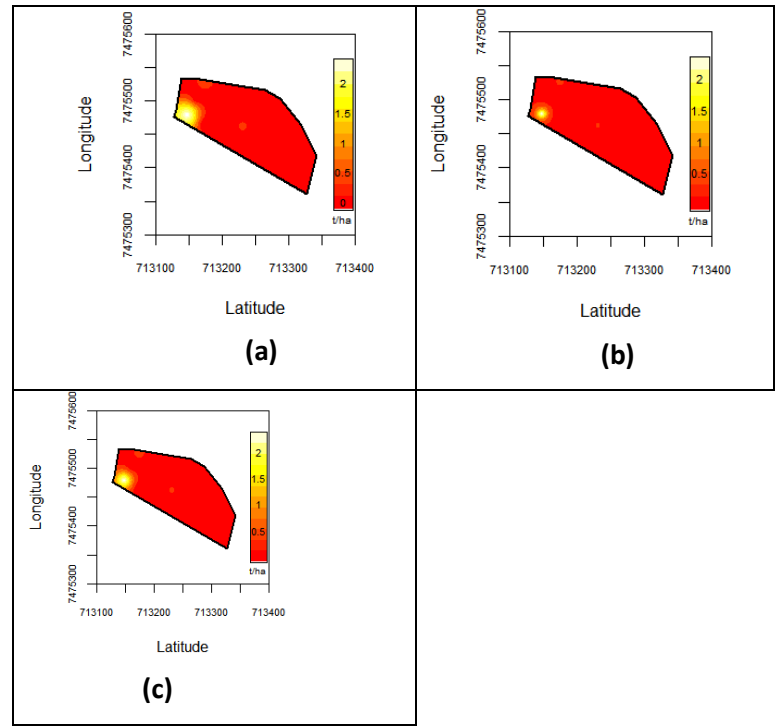


Figura 1 (a): Mapa de concentração de NC pelo modelo esférico em $t \cdot ha^{-1}$ **(b):** Mapa de concentração de NC pelo modelo exponencial em $t \cdot ha^{-1}$ **(c):** Mapa de concentração de NC pelo modelo gaussiano em $t \cdot ha^{-1}$



RECENTES AVANÇOS NA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES EM FELINOS: REVISÃO DE LITERATURA

Fernanda Martins Gonçalves; Gabriela Ramos Leal; Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E CLÍNICA
VETERINÁRIA/FACULDADE DE VETERINÁRIA/SETOR DE REPRODUÇÃO ANIMAL

INTRODUÇÃO:

Devido às mudanças climáticas e expansão das civilizações humanas, espécies de animais selvagens vem perdendo espaço na natureza e, conseqüentemente, caminhando para extinção. Mais de 38 espécies da família de felinos, com exceção do gato doméstico, possuem sua existência ameaçada na natureza (Jewjenow e Zahmel, 2020). Estudos sobre biotecnologias da reprodução vem sendo desenvolvidos com o intuito de preservar as populações ainda existentes. Nesse contexto, o felino doméstico (*Felis catus*) possui a genética e fisiologia mais próxima de seus semelhantes selvagens, sendo um bom modelo para estudos visando a otimização de diversas biotécnicas, como a produção *in vitro* de embriões (PIVE) (Pope, 2000; Jewjenow e Zahmel, 2020) que possui grande potencial para conservação de espécies selvagens. Sendo assim, o objetivo desta revisão de literatura foi (1) compilar as principais estratégias utilizadas para a otimização do processo de PIVE e (2) relatar os obstáculos encontrados no emprego desta biotecnologia no modelo felino doméstico.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A PIVE envolve as etapas de: obtenção dos complexos cumulus-oócitos (COC),

maturação *in vitro* de oócitos (MIV), fertilização *in vitro* (FIV) e cultivo *in vitro* de embriões (CIV). A partir da revisão de literatura realizada, observou-se que o sucesso da maturação *in vitro* do oócito depende de diversos fatores tais como: o estágio do ciclo estral, a idade do animal, a qualidade/competência do COC, tratamento hormonal, suplementação e o tempo de duração da etapa em si. Devido a importância da etapa de MIV dentro do processo de PIVE, diversos estudos visam estabelecer protocolos que sejam capazes de aumentar as taxas de maturação. Com o emprego dos hormônios eCG, hCG e FSH, a utilização de oócitos de qualidade (grau I) e as condições ideais de MIV (cerca de 30 horas para oócitos felinos no meio TCM 199), a taxa de maturação esperada fica em torno de 59 a 80%. Antioxidantes apresentam efeito benéfico na MIV felina, como o resveratrol, um antioxidante natural que reduz o estresse oxidativo celular contribuindo para um melhor desenvolvimento embrionário após fertilização *in vitro* (FIV). Outros antioxidantes também são citados na literatura de outras espécies apresentando resultados positivos que sugerem vantagens também para espécie felina, tais como o ácido ascórbico e alfa toracofenol. Da mesma forma,

suplementação com b-estradiol demonstrou taxas maiores de maturação quando comparada com a suplementação de progesterona. Além disso, o uso de albumina bovina sérica (BSA) demonstrou efeitos benéficos por ser um recurso proteico para MIV, fornecendo energia e aminoácidos essenciais. A etapa de fertilização *in vitro* apresenta atualmente taxas em torno de 40 a 60% de clivagem na PIVE felina. O sucesso da FIV depende da maturação do oócito, da qualidade do espermatozoide (bem como sua concentração e capacitação), do meio e suplementação do meio de cultivo. Na FIV felina, o uso de sêmen resfriado é mais eficiente do que o fresco e os espermatozoides incubados na presença de BSA apresentam maior taxa de penetração da zona pelúcida. Não foram observadas diferenças nas taxas de clivagem entre embriões produzidos por FIV quando comparados aos produzidos por injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). No entanto, a incidência da formação de blastocisto por ICSI é menor quando comparado aos embriões oriundos de FIV (Pope *et al.* 1998). Ainda foi demonstrado que o uso de ionomicina associada com 6-DMAP resulta em taxas de blastocistos por ativação partenogenética semelhantes àsquelas de embriões produzidos por FIV.

No que se refere a criopreservação dos embriões felinos produzidos *in vitro*, foi observado que não há diferença na criotolerância em relação ao estágio embrionário no momento da realização da técnica. De forma interessante, os embriões felinos não são muito afetados pelo processo de criopreservação

quando comparados ao seu grupo controle fresco.

CONCLUSÕES:

A PIVE é uma biotécnica de suporte eficaz para a preservação de espécies selvagens e os estudos conduzidos no gato doméstico são extremamente úteis para este fim. Considerando a gravidade de existirem diversas espécies selvagens felinas ameaçadas de extinção, estudos de revisões bibliográficas são necessárias para compilar informações que ajudem a tornar as técnicas de reprodução mais eficientes. Diversos fatores podem afetar a maturação oocitária e, conseqüentemente, a produção de embriões. Estudos vêm sendo realizados com novos protocolos propostos, que resultam em maiores taxas de embriões produzidos *in vitro*. As condições adequadas em cada etapa da PIVE, a utilização de suplementos e antioxidantes, bem como os meios de cultivo e protocolos de criopreservação dos embriões são importantes fatores que foram compilados nesta revisão para contribuir como fonte de dados e colaborar com a preservação de espécies felinas ameaçadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

COMIZZOLI P *et al.* (2009). *In vitro* compaction of germinal vesicle chromatin is beneficial to survival of vitrified cat oocytes. *Reprod Domest Anim*; 44:269e74.

GOODROWE KL, HAY M, RING A. (1991) Nuclear maturation of domestic cat ovarian oocytes *in vitro*. *Biol Reprod*; 45:466-470.

JEWGENOW K, ZAHMEL J. (2020). Preservation of female genetic resources in feline species, *Theriogenology*; 156:124-129.

POPE, C.E. (2000) Embryo technology in conservation efforts for endangered felids. *Theriogenology*; 53:163-174.

AGRADECIMENTOS:

FAPERJ, CNPq e à PROPPI.

Ciências Agrárias

EFEITO DO MELOXICAM SOBRE O BEM-ESTAR DE OVELHAS DA RAÇA SANTA INÊS SUBMETIDAS À COLETA TRANSCERVICAL DE EMBRIÕES

Rafael do Prado Freitas, Ana Clara Sarzedas Ribeiro, Augusto Ryonosuke Taira, Mário Felipe Alvarez Balaro, Felipe Zandonadi Brandão

MCV/Faculdade de Veterinária/Setor de Reprodução Animal

INTRODUÇÃO:

Apesar de a complexa morfologia cervical da ovelha dificultar o acesso uterino, a coleta de embriões por via transcervical tem-se mostrado uma alternativa viável nesta espécie. Quando comparada à coleta cirúrgica de embriões, por laparotomia, essa técnica possui a vantagem de não promover sequelas pós-cirúrgicas nos órgãos reprodutivos, além de baixo custo, risco reduzido de morte e rápida recuperação. Mesmo que seja menos invasiva, a coleta transcervical ainda é estressante e dolorosa devido a manipulação da cérvix (SANTOS et al., 2020), sendo necessário a utilização de protocolos anti-inflamatório e analgésico eficientes visando o bem-estar desses animais. Assim, o presente estudo objetivou avaliar o efeito de um protocolo com meloxicam, sobre o bem-estar de ovelhas submetidas à coleta transcervical de embriões.

O estudo foi aprovado pela CEUA/UFF (3155020620-ID000931) e realizado na Unidade de Pesquisa Experimental em Caprinos e Ovinos (UniPECO), localizada na Fazenda Escola da Faculdade de Veterinária da UFF, Cachoeiras de Macacu-RJ. Foram utilizadas 22 ovelhas multíparas da raça Santa Inês. Os animais foram submetidos ao protocolo de dia zero (BALARO et al., 2016) e superovulados com 133 mg de FSH, divididos em seis doses decrescentes a cada 12 h. Todas as ovelhas

foram inseminadas três vezes (24, 36 e 48 h após a quinta dose de FSH) com sêmen fresco no óstio cervical (300×10^6 espermatozoides/dose). Seis dias após a última inseminação, os animais foram submetidos a um protocolo hormonal para dilatação cervical (LEITE et al., 2018) e posteriormente à coleta de embriões por via transcervical. As ovelhas foram divididas em dois grupos: grupo tratamento (GT, n=12), no qual foi administrado meloxicam, antes da transposição cervical (1 mg.Kg⁻¹, i.v.) e 24h após a transposição cervical (1 mg.kg⁻¹, i.m.); e grupo controle (GC, n=10), que recebeu solução salina (0,05 mL.kg⁻¹), seguindo as mesmas vias e momentos. Antes da sedação (AS), depois da sedação (DS), após a transposição cervical (ATC), imediatamente após a coleta (IAC) e 0,5h, 1,5h, 3h, 6h, 12h, 24h e 48h após a coleta (AC) foram avaliados parâmetros clínicos como atitude, comportamento, apetite, frequências cardíaca e respiratória. Nestes momentos também foram obtidas amostras sanguíneas mensuração das concentrações séricas de cortisol, além da glicose plasmática.

A análise dos dados foi realizada com o software estatístico SAS. Os dados foram comparados por meio de um modelo misto, incluindo o momento, o tempo e sua interação como efeitos principais em variáveis com medidas repetidas, e o procedimento pdiff para

comparar pontos específicos. Para todos os testes, $P < 0,05$ foi considerado significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A coleta transcervical resultou em alterações transitórias, no comportamento, atitude e apetite, em ambos os grupos, porém essas alterações foram menos frequentes no grupo tratamento.

A concentração plasmática de glicose elevou-se ($P < 0,05$) a partir do momento DS até às 3h após a coleta, nestes momentos os animais apresentaram concentrações acima dos valores de normalidade para a espécie, porém não houve diferença entre os grupos ($P > 0,05$). A concentração sérica de cortisol elevou-se ($P < 0,05$) a partir do momento DS, com pico nos momentos ATC e IAC, e retornando aos valores basais às 3h AC no GC e às 6h AC no GT, sem diferença estatística entre os grupos ($P > 0,05$).

A frequência cardíaca dos animais elevou-se ($P < 0,05$), com relação ao momento basal, nos momentos IAC e 0,5h AC no GC; e do momento ATC até 1,5h AC no GT. Constatou-se diferença entre os grupos ($P < 0,05$) nos momentos ATC (GC: 110.8 ± 7.4 bpm vs. GT: 127.67 ± 6.54 bpm) e 12h AC (GC: 79 ± 3.06 bpm vs. GT: 96 ± 4.62 bpm). A frequência respiratória elevou-se no momento DS ($P < 0,05$), em ambos os grupos, e constatou-se diferença entre os grupos ($P < 0,05$) no momento IAC (GC: 36.80 ± 3.62 mrpm vs. GT: 28.00 ± 1.91 mrpm).

CONCLUSÕES:

Os resultados desse estudo comprovam que procedimentos envolvidos na técnica de coleta transcervical de embriões em ovelhas, apesar

de menos invasivos, ainda provocaram alterações transitórias em marcadores de estresse como glicose e cortisol, além de alterações clínicas, que podem comprometer o bem-estar desses animais. O tratamento com meloxicam utilizado não foi capaz de reduzir de maneira significativa essas alterações. Assim, recomenda-se o estudo de outras estratégias farmacológicas complementares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- BALARO, M. F. A. et al. Potential role for GnRH in the synchronization of follicular emergence before the superovulatory Day 0 protocol. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 54, p. 10–14, 2016.
- LEITE, C. R. et al. Cervical relaxation for non-surgical uterus access in Santa Inês ewes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 6, p. 1671–1679, 2018.
- SANTOS, J. D. R. et al. Transcervical vs. laparotomy embryo collection in ewes: The effectiveness and welfare implications of each technique. **Theriogenology**, v. 153, p. 112–121, 2020.

AGRADECIMENTOS:

À FAPERJ e ao CNPq pelo apoio financeiro.



Ciências Agrárias

DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE HERPESVÍRUS DE MOLUSCOS (*OSTREID HERPESVIRUS-1*) EM FAZENDA DE CULTIVO DE *NODIPECTEN NODOSUS* (LINNAEUS, 1758), (*MOLLUSCA: PECTINIDAE*) NA BAÍA DE ILHA GRANDE, RIO DE JANEIRO

Luiza Gomes Brandão; Adriana de Abreu Corrêa

Departamento de Microbiologia e Parasitologia/Instituto Biomédico/Núcleo de Pesquisa em Virologia

INTRODUÇÃO:

O Estado do Rio de Janeiro é geograficamente privilegiado possuindo o terceiro maior litoral do Brasil, com ecossistemas propícios à maricultura. Os moluscos bivalves mais cultivados no estado são as vieiras, mexilhões, ostras do mangue e do Pacífico, sendo as regiões de Niterói e Baía da Ilha Grande (BIG) importantes produtores. Estes animais podem ser infectados por diferentes vírus que replicam nos seus tecidos e que são transmitidos para outros bivalves, bem como crustáceos e peixes. Mortalidades entre as diferentes espécies de bivalves estão associadas mais comumente a infecção por vírus membros das famílias *Herpesviridae*, *Iridoviridae* e *Birnaviridae*. Os *herpesvirus like* e *Ostreid Herpesvirus-1*, da família *Herpesviridae* têm sido identificados em larvas e animais adultos de várias espécies de bivalves marinhos em diferentes partes do mundo, com alta mortalidade. Os animais adultos infectados têm o vírus na sua forma latente e após a reativação viral ocorre a transmissão para as larvas nos criadouros, que desenvolvem a forma de infecção produtiva letal dos herpesvírus. Na região das Baía da Ilha Grande estão localizados os maiores produtores de Vieiras brasileiras, e em 2019, foi relatada uma mortalidade de 60% da produção dos moluscos. Neste contexto, o objetivo inicial do

presente estudo foi uma avaliação da presença de *Ostreid Herpesvirus-1* em vieiras produzidas na Baía de Ilha Grande, como parte de uma estratégia na prevenção de doenças de etiologia viral nos cultivos da região. No entanto, com o atual cenário de pandemia, o planejamento inicial deste projeto necessitou ser revisto e atividades remotas também foram realizadas.

METODOLOGIA

As 24 amostras utilizadas nesse projeto foram coletadas entre janeiro e dezembro de 2019 em uma região produtora de Vieiras *Nodipecten nodosus* em Angra dos Reis. Para o processamento destas foi feita a dissecação dos tecidos para uso somente do tecido digestivo; foi aplicada a digestão proteolítica pela Proteinase K para concentração viral seguida da extração do material genético pelo uso de um kit comercial. A detecção molecular foi prevista no projeto e esta será realizada posteriormente, com o uso de PCR em tempo real (qPCR). Para o desenvolvimento das atividades remotas, foi aberta uma sala de aula no Ambiente Virtual de Aprendizagem (AVA) *Google Sala de Aula*, na qual foram criadas atividades a serem realizadas de forma Assíncrona e Síncronas para discussão das atividades e de artigos relacionados ao tema.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

No início de 2021, foi possível o retorno de alunos de graduação às atividades presenciais de pesquisa, mediante autorização de entrada pela Diretoria do Instituto Biomédico e com a obrigatoriedade da presença do orientador; mas apesar desta possibilidade, não foi possível a presença de forma contínua da aluna no laboratório. Considerando que esta não é natural de Niterói, houve a necessidade de seu retorno à casa da família, na cidade de Saquarema, Rio de Janeiro. Uma outra limitação ao desenvolvimento do projeto foi a interdição do Laboratório de Virologia (local onde seriam desenvolvidas as atividades de pesquisa) devido a manutenção de todo o sistema de ar condicionado, a partir do mês de abril deste ano. Desta forma, planejou-se a ida da aluna uma vez por semana, dentro do possível, e foram feitas concomitantemente atividades de forma remota, com o objetivo de revisão bibliográfica sobre o tema, aprendizado em relação à análise de artigos e estudos sobre as técnicas que seriam utilizadas no presente projeto. De acordo com o cronograma apresentado no projeto PIBIC e resultados apresentados no relatório parcial, foi possível até o momento cumprir de forma total/parcial somente quatro atividades previstas: atualização de bibliografia sobre o assunto (cumprida de forma total pela aluna); realização de concentração viral das amostras de vieiras (cumprida de forma parcial); extração do genoma viral das amostras de vieiras (cumprida de forma parcial); colaboração na redação de material para publicação (cumprida de forma total). No período anterior à pandemia, a aluna vinculada a este projeto

participou ativamente do processamento de todas as 24 amostras de vieiras previamente coletadas, sendo ela a responsável exclusiva pela dissecação, identificação, pesagem e armazenamento das amostras. Apesar das limitações para o desenvolvimento de atividades presenciais, já foi realizado o processamento para a concentração viral e extração do material genético de 12 amostras, sendo que as restantes estão previstas para serem processadas durante o mês de setembro. Além disso, a aluna realizou constante atualização bibliográfica sobre o tema do projeto, escreveu o resumo solicitado pelo PIBIC/UFF e auxiliou na redação dos relatórios. Em relação às atividades remotas, todas as atividades planejadas foram bem executadas pela aluna. O AVA ajudou bastante a interação orientadora-aluna durante este período. As atividades atribuídas à aluna foram executadas de forma assíncrona, através de material anexado para consulta e formulários com perguntas referentes ao tema do projeto e a artigos para discussão. Estas atividades foram discutidas em momentos síncronos quinzenais. Tão breve seja possível retornar plenamente às atividades de pesquisa, as demais etapas do projeto serão concluídas.

CONCLUSÕES:

Apesar das dificuldades encontradas para a realização dos objetivos do projeto, foi possível considerar que houve um aprendizado por parte da aluna bolsista, o qual é a proposta de uma iniciação científica. A atualização bibliográfica feita foi de grande importância para a redação do resumo, na colaboração na escrita deste relatório e no conhecimento da mesma sobre o tema central deste trabalho; as metodologias da

Proteinase K e de extração de material genético escolhidas para este projeto mostraram-se de fácil execução; as atividades remotas síncronas e assíncronas foram bem executadas e as discussões das atividades em momentos síncronos auxiliaram a aluna a desenvolver a leitura crítica de um texto científico e a discutir dados de pesquisas.

AGRADECIMENTOS:

Ao CNPq pelo apoio financeiro (Edital Universal Projeto 428339/2018-2) e ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da UFF pela bolsa concedida nos dois últimos meses da vigência do projeto.





Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias

Título do Projeto: Avaliação do escore total de hemossiderina (ETH) no lavado traqueal de equinos (*Equus caballus*) da raça Puro Sangue Inglês portadores de hemorragia pulmonar induzida pelo esforço.

Autores: Camila Bernardes, Bianca Cascardo, Guilherme N. de

Souza, Katia M. Silva, Liana Vilella de Gouvêa, Nayro X. de Alencar & Daniel A. B. Lessa

**Departamento/Unidade/Laboratório: Departamento de Patologia e Clínica Veterinária/
Faculdade de Medicina Veterinária/ Laboratório de Pesquisa Clínica e Diagnóstico
Molecular Prof. Marcílio Dias do Nascimento**

INTRODUÇÃO:

Dentre as alterações respiratórias que acometem equinos, a hemorragia pulmonar induzida pelo exercício (HPIE) compõe grande parte dos relatos clínicos para cavalos de corrida devido à intensa demanda cardiopulmonar a qual esses animais são submetidos em suas rotinas. A HPIE apresenta hipertensão pulmonar, edema dos locais onde ocorre a hematose, ruptura dos capilares pulmonares, hemorragia interalveolar e presença de sangue nas vias aéreas após a realização de exercício intenso. Seu potencial caráter crônico pode levar ao afastamento do animal das atividades esportivas, à queda progressiva de desempenho e, conseqüentemente, reduzir seu tempo de carreira, especialmente por não apresentar tratamento definitivo.

Na rotina clínica, o diagnóstico “padrão ouro” é a traqueoscopia, realizada de 30 a 120 minutos após o exercício de alta intensidade para observar a presença ou não de hemorragia na região caudo-dorsal da traqueia. Entretanto, a

sensibilidade desse exame pode ser considerada baixa, uma vez que depende de fatores como a intensidade do exercício realizado, o comprimento do endoscópio utilizado e a frequência e o momento do exame clínico. A American College of Veterinary Internal Medicine já sugere que a avaliação citológica de lavado respiratório seja utilizada complementarmente ao diagnóstico definitivo da HPIE. Assim, o presente estudo objetivou analisar amostras de lavados traqueais (LT) em cavalos de corrida Puro Sangue Inglês (PSI) para diagnosticar e graduar a hemorragia pulmonar induzida por exercício (HPIE) por meio da citologia e do escore total de hemossiderina (ETH) e avaliar sua correspondência com a traqueoscopia. Foram selecionados 20 cavalos saudáveis do Jockey Club Brasileiro da cidade do Rio de Janeiro, divididos entre HPIE-negativo (grupo controle) e HPIE-positivo (graus de 1 a 5) de acordo com o resultado da traqueoscopia realizada 60 minutos após uma corrida oficial. Nenhum dos animais era usuário de furosemida. Cerca de 24 horas após, foi realizado o LT e o material foi imediatamente processado para a

confecção de de lâminas para contagem diferencial de células e ETH, seguindo Silva et al. (2012). Os resultados foram analisados pelo teste de Shapiro-Wilk e Holm-Šidák realizadas através do software GraphPad Prism versão 9.2.0. Ainda, foi feito o teste de sensibilidade e especificidade do ETH em relação ao exame endoscópico utilizando o software SPSS v. 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os procedimentos realizados foram bem tolerados por todos os cavalos, não sendo necessário sedar nenhum animal. O grau 3 foi o máximo de sangramento observado no grupo II. Em ambas as análises citológicas, i.e., para contagem diferencial de células e para contagem de hemossiderófagos, todos os animais, independentemente do grupo, demonstraram algum grau de hemossiderina em seus macrófagos alveolares. Isso demonstra que todos os animais tiveram algum sangramento ao menos nos 14 dias anteriores à coleta. Nenhuma lâmina apresentou presença de mastócitos e também não demonstrou sinais de inflamação à citologia, confirmando que os animais eram saudáveis e que o sangramento à endoscopia não era oriundo de processo inflamatório das vias aéreas.

Todas as variáveis apresentaram distribuição normal, exceto pela porcentagem de neutrófilos. A comparação entre os grupos também apresentou normalidade, exceto em relação aos neutrófilos e ao grau 3 de sangramento. Não houve diferença significativa entre as médias dos grupos I e II quanto o valor de ETH e as

porcentagens de macrófagos, neutrófilos e leucócitos. Também não houve diferença significativa entre as médias de ETH de cada grupo e o grau de sangramento à endoscopia, nem na comparação entre grupos de acordo com o grau de sangramento à traqueoscopia.

A demonstração da não significância dos dados quanto à comparação entre os grupos em relação à contagem diferencial de células e ao ETH sugere que o exame endoscópico e os exames citológicos não são comparáveis entre si. Isso foi corroborado quando realizamos o teste de sensibilidade e especificidade. No entanto, a não significância entre os diferentes graus de sangramento no ETH sugere que o exame endoscópico de rotina não está sendo eficaz em identificar a ocorrência de HPIE de forma mais precoce.

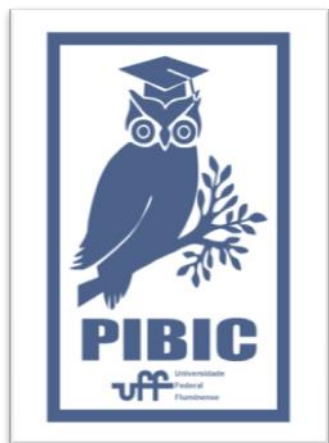
CONCLUSÕES:

Apesar de não haver correspondência entre os valores de ETH e os graus de sangramento classificados pela endoscopia, verificou-se que mesmo animais considerados HPIE-negativos na endoscopia tiveram algum grau de sangramento progressivo. Assim, confirma-se que o uso do LT para a avaliação de hemossiderófagos na rotina de cavalos de corrida PSI é de grande utilidade para se identificar ainda mais cedo o estabelecimento dessa doença.

AGRADECIMENTOS:

Gostaríamos de agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e

Tecnológico pela bolsa PIBIC da aluna Camila Bernardes e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro pelo auxílio concedido (Processo E-26\010.001900\2015), que permitiram a realização desse projeto.





Ciências Agrárias

AVALIAÇÃO DE TÉCNICAS DE NUCLEAÇÃO USADAS NA RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS E DE PRESERVAÇÃO PERMANENTE NO MORRO DO GRAGOATÁ - NITERÓI/RJ: Enfoque no mapeamento remoto.

Yasmin Kloosterman Gelli (Bolsista PIBIC/UFF-CNPq);

Janie Garcia da Silva (Orientadora - Laboratório Horto-Viveiro-Instituto de Biologia/UFF);

David de Andrade Costa (Co orientador - Instituto Federal Fluminense)

INTRODUÇÃO

O Morro do Gragoatá, localizado em Niterói/RJ possui cobertura vegetal do bioma Mata Atlântica. Sua conservação e recuperação é essencial pela importância ecológica e social. Na década de 1970, exposto a uma grave intervenção, foi parcialmente cortado para aterro da orla, criação da Av. Litorânea e dos campi da UFF do Gragoatá e Praia Vermelha. Apesar disso, é um dos poucos locais passíveis de manter uma floresta urbana na região centro-sul de Niterói, capaz de abrigar a biodiversidade regional (SILVA & COSTA, 2014).

A fim de preservar o Morro do Gragoatá, o LAHVI (LAHVI) da Universidade Federal Fluminense (UFF), atua na recuperação ambiental há 25 anos. De outubro de 2014 a dezembro de 2019 foi executor de um Termo de Cooperação entre a UFF e o Ministério do Meio Ambiente (MMA). SILVA & COSTA (2014), realizaram um estudo comparativo entre os anos de 2000 e 2014, mostrando significativo avanço na evolução da cobertura vegetal onde a vegetação de Capoeira Arbórea expandiu 58%. Em continuidade, este projeto realizou uma

avaliação remota utilizando diferentes métodos de mapeamento da cobertura do solo através de Sistema de Informação Geográfica (SIG) com imagens de aerolevanteamento.

Foram analisadas três técnicas: duas baseadas em pixel (Random forest e máxima verossimilhança) e uma baseada em objeto (GeoDMA), a fim de selecionar a melhor para avaliar a cobertura vegetal no período em estudo. As três técnicas são supervisionadas, exigindo o treinamento das classes através de amostras (CAMPBELL; WYNNE, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

As classificações foram visualmente semelhantes, demonstrando uma distribuição espacial de classes compatível em relação à cobertura de solo. Os métodos com abordagem pixel-a-pixel (MAXVER e RF) tiveram resultados superiores aos reportados na literatura por apresentarem acerto global acima de 70% (COHENCA & CARVALHO, 2015; HA et al., 2020; JHONNERIE et al., 2015). Em ambos, as classificações da imagem de 2014 foram mais ruidosas que em 2019, provavelmente pela

interferência de fatores de iluminação, como sombras e alta reflectância no lado iluminado da vegetação (ADAM et al., 2014; SOTHE et al., 2017). No método orientado a objeto, o resultado foi mais homogêneo e contínuo, como é esperado desse tipo de abordagem (DURO; FRANKLIN & DUBÉ, 2012). Os resultados das classificações RF e GeoDMA, em 2014, e MAXVER e GeoDMA em 2019, não tiveram diferença estatística segundo o teste z, a nível de significância estatística de 5%. Assim, o Random forest, com exatidão global de 92% em 2019, foi o melhor classificador.

CONCLUSÕES

O classificador Random forest destacou-se ao fornecer informações consistentes sobre a evolução da cobertura vegetal da área, podendo ser aplicado a outros trabalhos com objetivos semelhantes. Para próximos estudos, é indicado o uso de imagens com melhor resolução espectral a fim de aperfeiçoar a distinção de classes e as acurácias dos métodos MAXVER e GeoDMA.

As técnicas de nucleação com substrato compostado, utilizadas na recuperação de áreas degradadas, mostraram eficiência ao contribuírem na redução da classe de solo exposto, vegetação herbácea e arbustiva e expansão da classe arbórea, que teve um aumento de quase 25% dentro do período analisado. Fica evidente, portanto, não só a importância do manejo em áreas de proteção ambiental, mas a necessidade de fomento a projetos que possibilitem tal ação - como o Termo de Cooperação entre a UFF e o

Ministério do Meio Ambiente (MMA) e que apoiem formas de avaliar sua efetividade, como o PIBIC. Com o aumento da necessidade do uso sustentável do ambiente é de suma importância, apontar e avaliar mudanças na cobertura do solo, principalmente no tão ameaçado bioma da Mata Atlântica.

AGRADECIMENTOS

À PROPPi-UFF e ao CNPq, por proporcionarem a bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) que possibilitou essa pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, Elhadi *et al.* Land-use/cover classification in a heterogeneous coastal landscape using RapidEye imagery: evaluating the performance of random forest and support vector machines classifiers. *International Journal of Remote Sensing*, v. 35, n. 10, p. 3440–3458, 2014.

CAMPBELL, James B.; WYNNE, Randolph H. *Introduction to Remote Sensing*. 5. ed. [S.l.]: Guilford, 2011. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=NkLmDjSS8TsC&oi=fnd&pg=PP1&dq=campbell+1996+introduction+to+remote+sensing&ots=s2GpA7k01D&sig=HjvOtNFpV815Qo_78nbchAyPqoA#v=onepage&q=campbell+1996+introduction+to+remote+sensing&f=false>. Acesso em: 20 jul. 2021.

COHENCA, Daniel; CARVALHO, Raquel. Comparação de métodos de classificação OBIA, Máxima Verossimilhança e Distância Mínima em imagem OLI/Landsat-8 em área de alta diversidade de uso do solo. *Anais XVII Simpósio*

Brasileiro de Sensoriamento Remoto - SBSR, p. 1035–1042, 2015.

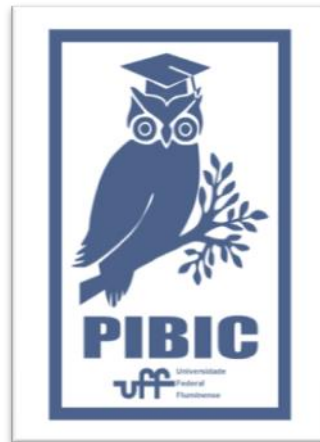
DURO, Dennis C.; FRANKLIN, Steven E.; DUBÉ, Monique G. A comparison of pixel-based and object-based image analysis with selected machine learning algorithms for the classification of agricultural landscapes using SPOT-5 HRG imagery. *Remote Sensing of Environment*, v. 118, p. 259–272, 28 dez. 2012.

HA, Nam Thang *et al.* A comparative assessment of ensemble-based machine learning and maximum likelihood methods for mapping seagrass using sentinel-2 imagery in Tauranga Harbor, New Zealand. *Remote Sensing*, v. 12, n. 3, p. 1–16, 2020.

JHONNERIE, Romie *et al.* Random Forest Classification for Mangrove Land Cover Mapping Using Landsat 5 TM and Alos Palsar Imageries. *Procedia Environmental Sciences*, v. 24, p. 215–221, 2015.

SILVA, Janie Garcia da; COSTA, David de Andrade. Mapeamento da evolução da cobertura vegetal do Morro do Gragoatá, Niterói/RJ. p. 4, 2014.

SOTHE, Camile *et al.* Abordagens para classificação do estágio sucessional da vegetação do parque nacional de são joaquim empregando imagens landsat-8 e rapideye. *Boletim de Ciências Geodesicas*, v. 23, n. 3, p. 389–404, 1 jul. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1982-21702017000300026>>. Acesso em: 21 jun. 2021.





Ciências Agrárias

INVESTIGAÇÃO E TIPIFICAÇÃO DE HEMOLISINAS DE *Escherichia coli* ISOLADAS DE ALIMENTOS E ANIMAIS

Juliana Alves da Silva; Maria Theresa Xavier dos Santos;
Júlia Peixoto de Albuquerque; André Victor Barbosa; Aloysio
de Mello Figueiredo Cerqueira.

Departamento de Microbiologia e Parasitologia.

Laboratório de Enteropatógenos, Microbiologia de

Alimentos e Veterinária - LEMA

INTRODUÇÃO

Apesar da maioria das cepas de *Escherichia coli* habitar o trato gastrointestinal de humanos e outros animais numa relação comensal, uma grande variedade de estirpes patogênicas causadoras de doença intestinal (DEC, *E.coli* Diarreio gênica) ou InPEC, (*E. coli* Patogênica Intestinal) e extra intestinal (*E.coli* Patogênica Extraintestinal – ExPEC), revelando sua natureza oportunista.

A patogenicidade destas estirpes é consequência da aquisição e produção de diversos fatores de virulência, tais como adesinas, invasinas, toxinas, evasinas e sistemas de captação de ferro, dentre outros.

As hemolisinas em particular são citotoxinas que provocam lise celular, um de seus alvos são as hemácias, essa lise contribui para a aquisição de ferro pela bactéria. São reconhecidas como hemolisinas de *E.coli*: α -hemolisina (*hlyA*), enterohemolisina plasmidial (*ehxA*), enterohemolisina fágica (*EhlyA*), hemolisina Silenciosa (*sheA*) e a hemolisina associada ao plasmídeo Col V (*hlyF*).

A participação das hemolisinas no processo infeccioso dos patotipos de *E.coli* é melhor compreendida em relação à α -hemolisina e a enterohemolisina plasmidial. Além disso, a ocorrência destas hemolisinas nos diferentes patotipos, bem como dos subtipos relatados de enterohemolisina ainda não é bem descrita.

O presente estudo investigou, através de testes fenotípicos e ensaios moleculares a ocorrência e expressão dos diferentes tipos de hemolisinas, em cepas de diversos patotipos intestinais e extra-intestinais de *E. coli* da coleção do LEMA isoladas de animais e alimentos de *E. coli* intestinais e extraintestinais, onde os resultados possam contribuir no entendimento da ocorrência de hemolisina em diferentes patotipos e cepas comensais bem como avaliar a relação genética entre elas.

METODOLOGIA

Foram analisadas 234 cepas de *Escherichia coli* oriundas da coleção de culturas do laboratório e isoladas de diversos municípios do Estado do Rio de Janeiro a

partir da década de 1990. Desse modo foram incluídas no grupo de estudo: 84 cepas EHEC/STEC isoladas de gado bovino; 11 cepas EHEC/STEC isoladas de outros animais (caprinos, ovinos e suínos); 20 cepas EHEC/STEC isoladas de produtos cárneos de origem bovina; 10 cepas aEPEC isoladas de cães; 89 cepas ExPEC isoladas de aves; 9 cepas ExPEC isoladas de modo pareado de cães e seus tutores e 11 cepas ExPEC (UPEC) isoladas de cães. Dentre as EHEC/STEC estudadas, selecionou-se cepas isoladas em três diferentes períodos, ao longo da década de 90, na década de 2000 e na década de 2010. As cepas foram incubadas a 37°C em tubos contendo caldo de tripticaseína de soja (TSB) por 18-24 horas. A atividade hemolítica foi investigada em placas de ágar sangue lavado de carneiro (para diferenciação da alfa hemolisina após 3 horas de incubação e enterohemolisina após 18-24h de incubação). Uma alíquota de 10µL do crescimento foi inoculada na placa na forma de "spot" (até 25 por placa) . Em todos os ensaios foram utilizados controles positivos e negativos (positivos para α-hemolisina: U4-41, EC139, C3888; positivo para Enterohemolisina: EC784, EDL933; Negativo para ambas hemolisinas: DH5α). Os testes foram confirmados por ao menos uma repetição do ensaio.

O teste fenotípico nos permite diferenciar somente α-hemolisina e enterohemolisina, sendo necessário um ensaio molecular como ferramenta de diferenciação das outras hemolisinas e dos genótipos enterohemolíticos.

Desse modo, ensaios de reação de polimerase em cadeia (PCR), foram

realizados utilizando-se iniciadores dos genes *ehxA*, *hlyA*, *e-hlyA*, *sheA* e *hlyF*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao se considerar os patótipos e origem das amostras separadamente, observou-se no grupo de EHEC/STEC de origem bovina 4 (4,8%) cepas α-hemolíticas, 41 (48,8%) cepas enterohemolíticas e 39 (46,4%) não hemolíticas.

No grupo de cepas EHEC/STEC oriundas de outros animais, todas se mostraram não hemolíticas.

Entre as cepas EHEC/STEC isoladas de produtos cárneos de origem bovina uma (5%) cepa apresentou perfil α-hemolítico, 12 (60%) cepas com fenótipo enterohemolítico e 7 (35%) cepas não hemolíticas.

No grupo das cepas de EPEC atípica (aEPEC) de origem canina também não foi observada atividade hemolítica.

Entre as ExPEC isoladas de aves apenas duas (2,2%) apresentaram perfil α-hemolítico enquanto 19 (21,3%) exibiram perfil enterohemolítico e 68 (76,40%) não apresentaram atividade hemolítica..

Entre as cepas do grupo ExPEC de cães e humanos duas (22,2%) mostraram perfil α-hemolítico, duas (22,2%) apresentaram o perfil enterohemolítico e cinco (55,56%) não foram hemolíticas..

No grupo de UPEC de origem canina, 3 (27,2%) apresentaram halo α-hemolítico, nenhuma outra amostra exibiu padrão para enterohemolisinas após o período de leitura

determinado, sendo assim 8 (72,7%) amostras negativas.

Considerando-se o total de cepas estudadas, 5,1% delas apresentaram perfil α -hemolítico, enquanto 31,6% apresentaram perfil enterohemolítico, As cepas remanescentes (64,3%) não apresentaram atividade hemolítica.

Ensaio iniciais de PCR testando cepas controle positivas e negativas para *ehxA*, *hlyA*, *e-hlyA* obtiveram resultados esperados.

Ensaio de PCR para *sheA* mostrou resultados positivos em várias cepas, de patótipos intestinais e extra-intestinais, também demonstrando a sua ampla ocorrência em *E. coli*.

CONCLUSÃO

A ocorrência de alfa hemolisina foi maior entre cepas ExPEC, conforme esperado.

A ocorrência maior de enterohemolisina entre amostras EHEC de origem bovina igualmente também era esperada. Quando analisadas segundo a época do isolamento, observou-se frequência mais baixa entre as cepas isoladas na década de 2000. A ausência desta hemolisina em cepas isoladas de outros animais não era esperada, mas o número pequeno de cepas testadas pode ter influenciado.

De modo similar, a ocorrência de enterohemolisinas em cepas ExPEC foi inesperada.

A ocorrência do gene da hemolisina silenciosa é frequente entre as cepas de *E. coli* independente do patótipo analisado.



Anatomia Patológica Veterinária

CARACTERIZAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE TUMORES SEBÁCEOS EM CÃES – ESTUDO RESTROPECTIVO.

Fernanda Neves Moreira; Camila de Almeida Pires; Juliana da Silva Leite e Ana Maria Reis Ferreira.

Faculdade de Veterinária- UFF / Departamento de Patologia e Clínica Veterinária (MCV) / Laboratório de Anatomia Patológica Veterinária (LAPV).

INTRODUÇÃO:

O aumento do tempo médio de vida dos animais domésticos traz consigo uma elevada incidência de doenças relacionadas ao envelhecimento, como as doenças oncológicas. Os tumores de glândulas sebáceas são comumente encontrados nos cães, variando entre 6% e 21% dos tumores cutâneos dessa espécie.

O estudo de neoplasias sebáceas em humanos configura-se de extrema importância, visto que possuem alta relação com uma com a Síndrome de Muir-Torre (SMT), uma gernerodermatose associada em sua maioria com uma ou mais doenças malignas viscerais, em particular, neoplasias colorretais, endometriais, urológicas, e do trato gastrointestinal superior. Os genes mais comumente mutados na SMT incluem MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2. A detecção e tratamento precoce para os indivíduos acometidos geram prognósticos favoráveis (JESSUP et al. 2016).

Desta forma, o presente estudo tem como objetivos iniciais o levantamento epidemiológico (sexo, idade e raça) e a caracterização anatomopatológica de neoplasias sebáceas em cães, com um

levantamento retrospectivo de animais, no período de 2013-2018, na Universidade Federal Fluminense, reforçando a importância das avaliações histológicas, para futuras avaliações de SMT em cães.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram avaliados 69 indivíduos, em que 26% (18/69) eram sem raça definida (SRD), 24,6% (17/69) são da raça Poodle, Cocker Spaniel e Labrador 8,7% (6/69), Bulldog Francês e Yorkshire 4,3% (3/69), Teckel 2,9% (2/69) e demais raças 1,4% (1/69). As raças Poodle e Cocker Spaniel são descritas na literatura com maior predisposição ao surgimento de neoplasias sebáceas (GOLDSCHMIDT et al., 2002; BLACKWOOD, 2011; LEBLANCK, 2011), assim como observado no presente estudo. No entanto, os animais SRD foram os mais frequentes dentre os animais avaliados, fato este devido ao maior número de atendimento desta raça no Hospital Universitário Veterinário (HUVET-UFF).

A idade média dos animais foi de 11 anos, e 50,7% (35/69) do sexo feminino. Em humanos, a SMT é diagnóstica principalmente em pacientes com idosos. Em relação ao sexo, considera-se a ocorrência em mulheres maior quando em comparação com os homens. Sobre

a localização anatômica das lesões, o dorso, cabeça, região perineal e tronco são as regiões anatômicas mais acometidas pelos nódulos sebáceos em cães. Em humanos, face, cabeça e pálpebra.

A hiperplasia sebácea foi o diagnóstico mais frequente encontrado nas análises histopatológica, seguidos de adenoma, epiteloma sebáceo, carcinoma sebáceo, carcinoma perianal, epiteloma meibomiano, adenoma perianal. A hiperplasia sebácea apresentou-se com maior frequência em humanos também, esta configura-se como uma superabundância benigna dos lóbulos sebáceos com aparência normal (LYLE et al., 2010).

Em relação a avaliação microscópica das lesões, foram observados 112 nódulos sebáceos de 69 animais, em que 69,6% (78/112) não foram infiltrativos e 89,3% (100/112) encontram-se localizados superficialmente na derme. Os nódulos neoplásicos apresentaram 41,1% (46/112) de pleomorfismo leve e 5,4% (6/112) moderado. A intensidade de inflamação foi presente de forma leve em 46,4% (52/112) dos nódulos sebáceos e apenas 0,9% (1/112) de forma acentuada, sendo o tipo de inflamação mononuclear predominante com 35,7% (40/112), apresentando-se distribuída de maneira difusa em 28,6% (32/112) das tumorações, porém 33,9% (38/112) apresentaram ulcerações.

A maioria dos tumores analisados apresentaram-se superficialmente na derme, sem características de infiltração estromal e baixo pleomorfismo celular, demonstrando uma

maior frequência de tumores benignos. Além disso, mais da metade das lesões apresentaram processo inflamatório associado, predominantemente mononuclear, e alguns casos.

CONCLUSÕES:

Os tumores sebáceos são comumente negligenciados na rotina Médica Veterinária, esse fato pode ser justificado por em sua maioria serem benignos (hiperplasias). No entanto, as neoplasias sebáceas são indicadores da Síndrome de Muir-Torre em humanos, uma mutação em genes de reparo que estão associadas a neoplasias malignas interna. O estudo anatomopatológico auxilia na triagem do paciente. Após a caracterização do tipo neoplásico, o material é encaminhado para avaliação de imuno-histoquímica e/ou avaliação de microssatélites, possibilitando melhor prognóstico para o paciente.

Assim como ocorre nos hospitais humanos, nos cães todos os tumores sebáceos devem ser biopsiados, avaliados macroscopicamente, anatomopatologicamente, e concomitantemente, o paciente deverá ser submetido a exames de imagens e outros, buscando possíveis alterações malignas.

O estudo aprofundado dos nódulos sebáceos em cães é necessário, para esclarecer se há ou não a ocorrência da SMT em cães também.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço à minha família, por todo suporte e incentivo durante toda minha etapa de graduação, em especial neste período singular de pandemia. Agradeço também à minha professora orientadora Juliana da Silva Leite pela oportunidade de mais um trabalho sob sua orientação; à Kássia Maria de Souza, bolsista que me antecedeu neste projeto; à doutoranda Camilla Almeida; ao Laboratório de Anatomia Patológica Veterinária da UFF e ao PiBIC que fomenta e possibilita a realização dos estudos científicos que contribuem para o progresso da pesquisa em nosso país.

A pesquisa é um ato de resistência, por isso, agradeço a todos os pesquisadores por continuarem a movimentar nosso antro intelectual brasileiro.

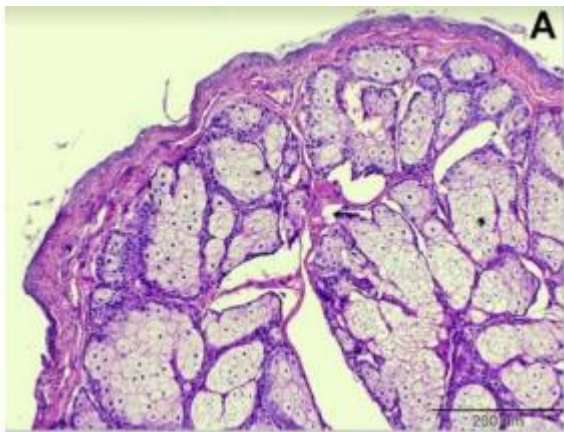


Imagem 1: Hiperplasia Sebácea. Aumento de 20X; Barra = 200μm.



Agrárias

PCR CONVENCIONAL E NESTED PCR NA DETECÇÃO DE *Mycoplasma gallisepticum* EM POEDEIRAS COMERCIAIS

Lya Duarte Santana¹, Arthur de Almeida Figueira¹, Thomas Salles Dias¹, Leandro dos Santos Machado¹, Dayse Lima da Costa Abreu¹, Nathalie Costa da Cunha¹, Elmiro Rosendo Nascimento¹, Virginia Léo de Almeida Pereira¹

MSV/Faculdade de Veterinária¹

INTRODUÇÃO:

A micoplasmose é considerada uma das doenças respiratórias de maior impacto econômico na avicultura, constando da lista de doenças de notificação obrigatória da OIE e com prioridade no Programa Nacional de Sanidade Avícola do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA) (BRASIL, 2001). *Mycoplasma gallisepticum* (MG) é considerada a espécie de micoplasma mais patogênica que acomete as aves e está presente nos plantéis brasileiros de poedeiras comerciais (ARMOUR, 2020; SILVA et al., 2020). Diversas cepas de MG já foram diferenciadas fenotípica e genotipicamente, com diferentes graus de patogenicidade, virulência e imunogenicidade, o que justifica a variação na severidade das doenças por MG (ARMOUR, 2020). O MAPA preconiza medidas de monitoramento da micoplasmose em estabelecimentos avícolas de controles permanentes e eventuais (exceto postura comercial, frango de corte e ratitas), que realizam o comércio ou a transferência nacional e internacional de seus produtos, destinados à reprodução e produção de aves e de ovos férteis. A PCR está entre as técnicas indicadas pela legislação para monitoramento e diagnóstico, e os lotes de reprodutoras devem

ser livres de MG (BRASIL, 2001; NASCIMENTO et al., 2020). Sendo assim, é importante o estudo frequente das técnicas e a comparação entre elas para o melhor controle de MG no plantel avícola brasileiro. Neste estudo foi feita a comparação entre PCR Convencional e a Nested PCR na detecção de MG em lotes de poedeiras comerciais. Foram selecionadas 139 amostras de traqueia, colhidas com suabes, provenientes de seis granjas diferentes na região centro-oeste do estado de São Paulo e armazenadas sob temperatura de -20° C. Para detecção de MG, pela PCR convencional, a reação conteve: 1X de PCR buffer; 2mM de MgCl₂; 0,2mM de dNTP; 0,2µM de cada primer específico (NASCIMENTO, 1991); 1U de Taq Polimerase (Platinum Taq DNA Polimerase, Thermo Fisher Scientific, Brasil) e 100ng do DNA extraído, totalizando um volume final de 25µL. A PCR convencional foi realizada nas seguintes condições: 95°C por cinco minutos, seguidos de 40 ciclos de 95°C por um minuto, 55°C por dois minutos e 72°C por um minuto, com uma fase final de 72°C por cinco minutos. Para a NESTED PCR, a reação inicial de PCR foi feita de acordo com NASCIMENTO et al. (1991) contendo 13,3 µl de água para PCR; 2,5µl de tampão PCR 10X; 2mM de MgCl₂; 0,2mM de dNTP; 0,2 µM de cada

primer (QUADRO 1); 1U de Taq Polimerase e 100ng do DNA extraído, totalizando 25µl. A PCR foi realizada nas seguintes condições: 95°C por 5 minutos, seguido de 30 ciclos de 95°C por 1 minuto, 55°C por 2 minutos e 72°C por 1 minuto, com uma fase final de 72°C por 5 minutos. Em seguida, o produto da reação inicial foi submetido à Nested-PCR, conforme NASCIMENTO et al. (2005), com os seguintes ciclos de amplificação: 95°C por 5 minutos, seguido de 40 ciclos de 95°C por 1 minuto, 55°C

por 2 minutos e 72°C por 1 minuto, com uma fase final de 72°C por 7 minutos. Os amplicons obtidos na PCR e na Nested PCR para MG foram aplicados em gel de agarose a 1,5%, submerso em Tampão Tris-Acetato-EDTA 1X (TAE), submetido à corrida eletroforética de 94 Volts durante 40 minutos, corados com Brometo de Etídio e a visualização dos produtos amplificados foi realizada sob luz ultravioleta em transiluminador.

QUADRO 1. Descrição dos primers para detecção de *Mycoplasma gallisepticum* (MG) por PCR e Nested-PCR e as respectivas referências

Primers*	Sequência (5' - 3')	Produto	Referência
MG AMP1-f	GGATCCCATCTCGACCACGAGAAAA	732 pb	NASCIMENTO et al., (1991)
MG AMP2-r	CTTTCAATCAGTGAGTAACTGATGA		
MG B1-f	CGTGGATATCTTTAGTTCCAGCTGC	481 pb	NASCIMENTO et al., (2005)
MG B2-r	GTAGCAAGTTATAATTTCCAGGCAT		

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foi possível detectar MG em todas as granjas tanto pela técnica de PCR convencional, quanto pela Nested PCR, o que confirma a presença deste agente nos plantéis de poedeiras comerciais brasileiros. Do total de 139 amostras traqueais provenientes de seis granjas na região centro-oeste do estado de São Paulo, 16,54% (23/139) apresentaram resultado positivo para MG à PCR convencional e 25,89% (36/139) foram positivas à Nested PCR (TABELA 1). Apesar de mais demorada por envolver duas reações, a Nested PCR obteve frequência ligeiramente maior que a PCR convencional na detecção de MG a partir das amostras

estudadas, embora diferença entre frequências encontradas não tenha sido significativa (Teste Exato de Fischer, $p > 0,05$).

Tabela 1. Detecção de *M. gallisepticum* (MG) pelas técnicas de PCR convencional e Nested PCR em galinhas de postura.

Nested PCR n (%)	PCR Convencional n (%)		Total
	Positivas	Negativas	
Positivas	10 (7,19)	26 (18,70)	36/139 (25,90)
Negativas	13 (9,30)	90 (64,75)	103/139 (74,10)
Total	23/139 (16,55)	116/139 (83,45)	139/139 (100)

Teste Exato de Fischer, $p > 0,05$

CONCLUSÕES:

À técnica Nested PCR, as cepas de MG foram detectadas nos lotes de galinhas poedeiras estudados em frequência ligeiramente maior quando comparada à PCR convencional. A utilização da Nested PCR pode melhorar a chance de detecção de aves positivas nos lotes de galinhas para monitoramento de MG.

AGRADECIMENTOS: À FAPERJ, ao CNPq e á PROPPI pelo auxílio financeiro

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ARMOUR, N.K. *Mycoplasma gallisepticum* Infection. In: Swayne, D.E., *Diseases of Poultry*, 14th Ed., Nova Jersey, EUA: Wiley & Sons, Inc., 2020, p. 911- 923.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. IN nº 44, de 23/ 08/ 2001. Diário Oficial da União de 24/08/2001, Seção 1, p. 68

NASCIMENTO E.R.; YAMAMOTO R.; HERRICK, K.R.; TAIT, R.C. Polymerase Chain Reaction for Detection of *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Diseases*, v. 35, p. 62-69, 1991.

NASCIMENTO, E.R.; NASCIMENTO, M.G.F.; VASCONCELOS, M.P.; BARRETO, M.L.; ALMEIDA, J.F; CAMPOS, C.A.M.; PEREIRA, V.L.A. Aprimoramento da PCR para *Mycoplasma gallisepticum* pelo encurtamento do "amplicon" e ajustes no processamento da amostra. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 33, n. 3, p. 297-301, 2005.

NASCIMENTO, E.R.; PEREIRA, V.L.A.; MACHADO, L.S.. *Micoplasmoses Aviárias*. In ANDREATTI FILHO et al. *Doenças das Aves*, 2ª ed., Campinas: FACTA, 2020, p. 549-573.

SILVA, R.L. et al . Prevalência e estudo genético de *Mycoplasma gallisepticum* e *M. synoviae* em poedeiras comerciais, na região centro-oeste do estado de São Paulo, Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte , v. 72, n. 4, p. 1346-1352.



Grande área do conhecimento

Título do Projeto: DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS EMBUTIDOS E QUALIDADE DA CARNE DE RÃ MECANICAMENTE SEPARADA ADICIONADA DE PRODUTOS BIOATIVOS COM POTENCIAL ANTIOXIDANTE.

Autores

Departamento/Unidade/Laboratório

1. INTRODUÇÃO

O pescado e derivados estão entre os produtos alimentícios mais comercializados no mundo. Encontrar alternativas para o aproveitamento de produtos à base de pescado, de baixo valor a fim de minimizar os impactos sócio-econômicos não tem tido resultados nem soluções muito simples (PIRES, 2014). Dentre as tecnologias utilizadas estão a produção de carne mecanicamente separada (CMS), carne triturada de pescado (CTP), surimi e concentrado proteico de pescado (CPP) como produtos intermediários para o desenvolvimento de produtos finais de alto valor agregado, tais como os formatados e os embutidos de pescado (GONÇALVES, 2011). Essas alternativas tecnológicas agregam valor à categoria “mistura” podendo ser alternativa de incremento de renda e fator importante na oferta de alimento de alta qualidade nutricional.

O aumento no consumo de pescado no Brasil, alavanca produtos cada vez mais industrializados, resultando no aumento dos resíduos gerados pelas indústrias, tais como sangue, vísceras, pele, escamas, espinhas, cabeça e a carne que fica presa à medula espinhal do pescado durante o processo de filetagem (BARTOLOMEU, 2011).

Particularmente, no caso dos idosos essa carne se destaca pela biodisponibilidade de cálcio atuando na prevenção da osteoporose, além da alta digestibilidade de sua proteína e presença de ácidos graxos poli-insaturados (GONÇALVES; OTTA, 2008).

A rã-touro, *Lithobates catesbeianus*, que é uma espécie nativa da América do Norte foi trazida para o Brasil em 1935. A criação de rã em cativeiro tem se mostrado uma opção de geração de renda. Isso se dá, em boa parte, pelas qualidades nutricionais de sua carne que funcionam como excelente ferramenta de divulgação entre os consumidores.

A proposta deste trabalho é assessorar o desenvolvimento das rotinas laboratoriais e desenvolvimento de produtos a partir de carne de rã separadas e homogeneizadas, para confecção de produtos embutidos de rã.

2. METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no Centro Estadual de Pesquisa em Qualidade de Alimentos e instalações da PESAGRO – RJ, as análises microbiológicas serão realizadas no Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal da Faculdade de

Veterinária do Departamento de Tecnologia dos Alimentos/UFF, as análises de dados se realizarão no Núcleo de Toxicologia e Sanidade Animal – NTSA/UFF e Laboratório de Micologia da Universidade Federal de Minas Gerais – LAMICO.

Os equipamentos, bem como o a maior parte do material de consumo, necessários para o desenvolvimento da pesquisa estarão disponíveis no Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal do Departamento de Tecnologia dos Alimentos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense e no Centro Estadual de Pesquisa e Qualidade de Alimentos (CEPQA) da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio de Janeiro (PESAGRO-RJ).

Os dorsos e fígados de rã foram identificados, pesados e feita a lavagem em água corrente hiperclorada, após isso foram utilizadas máquinas de despolpa mecânica a fim de obtenção da polpa de carne de rã ou carne mecanicamente separada (CMS).

e determinações dos números mais provável de coliformes termotolerantes e totais seguindo metodologia sugerida pelo Ministério da Agricultura (MAPA) e a recomendação da resolução RDC nº 12 da ANVISA para amostras representativas de pescado in natura, resfriados ou congelados não consumido cru (APHA, 1992; As análises laboratoriais foram realizadas no laboratório da PESAGRO seguindo a recomendação da resolução RDC nº 12 da ANVISA para amostras representativas de pescado in natura, resfriados ou congelados não consumido cru (BRASIL, 2001a) e seguindo a

metodologia da IN nº 62 (BRASIL, 2003) com contagem de estafilococos coagulase positiva e presença de Salmonella sp.

Sendo a análise de variância (ANOVA), com a transformação dos dados em escala logarítmicos o usualmente aplicado para as análises microbiológicas e para as análises toxicológicas e físico-químicas a diferença de médias foi aplicado com o teste Tukey para avaliação estatística, com o nível de significância 0,005 AGRESTI, 1990; *Statistica for Windows 5.0 SAS System for Windows®*).

3. RESULTADOS

Os valores da análise físico química da carne de rã e do fígado comparados a média de outros artigos relacionados estão dentro do índice esperado, com a média de proteína alta e o baixo teor de lipídeos. Essa composição proteica ao ser comparada com um outro tipo de carne branca, demonstra de forma exacerbada as diferenças, pois embora a porcentagem de proteína da carne de rã seja de 17% e a de frango 19%, o que as diferencia, além dos aminoácidos essenciais que ambas possuem, é a quantidade superior de colágeno da carne da rã e outros benefícios como a alta digestibilidade que ela traz nutricionalmente.

Estes fatores são de grande importância para o consumo humano, pois a carne de rã possui proteínas de alto valor biológico, contendo aminoácidos essenciais ao desenvolvimento e que não são sintetizados pelo organismo, baixo teor de gorduras e menor valor calórico que as

carnes de aves e peixes, e baixíssimos níveis de colesterol.

Os resultados da análise microbiológica das duas amostras estão dentro dos padrões totais, seguindo a metodologia sugerida pelo Ministério da Agricultura e a recomendação da resolução RDC nº 12 da ANVISA para amostras representativas de pescado in

Após a análises da matéria prima, com indicação de conformidade dos padrões de identidade e qualidade do material, procedeu-se com o desenvolvimento de produtos embutidos utilizando carne de rã, como o patê.

Para confecção dos patês foram seguidas as proporções para estabelecer os diferentes tratamentos e assim, estabelecer qual será a melhor formulação e mistura adequadas do produto final.

4 . CONCLUSÃO

Após as análises do Físico Químico e o Microbiológico da matéria prima do dorso branqueado da rã e fígado os resultados parciais serem positivos e condizentes com a literatura consultada, o próximo seguimento é buscar a melhor mistura para começar a fazer análises sensorial, pois até a data presente os resultados obtidos foram satisfatórios para o projeto de embutido com a carne de rã e o fígado.

ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DE OVÁRIOS DE CADELAS COM CARACTERIZAÇÃO DE DIFERENTES ALTERAÇÕES E ASSOCIAÇÃO COM LESÕES UTERINAS E DE GLÂNDULA MAMÁRIA

ANA CLARA CHIARELLI TECHIMA, IZADHORA BARBOSA PAIVA, MARCELA FREIRE VALLIM DE MELLO

SETOR DE ANATOMIA PATOLÓGICA VETERINÁRIA, DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E CLÍNICA VETERINÁRIA, FACULDADE DE VETERINÁRIA, UFF

INTRODUÇÃO

As alterações ovarianas mais comuns em animais, incluindo cadelas, são cistos e neoplasias. Estas afecções podem levar a alterações uterinas e mamárias, caso haja desequilíbrio na produção hormonal.

Os cistos ovarianos podem ser originados de diferentes estruturas, como folículos, corpo lúteo e epitélio ovariano. As neoplasias podem ser divididas em três categorias: tumores de superfície de epitélio celômico, de cordões sexuais e estroma gonadal e de células germinativas. Os tumores produtores de hormônios sexuais, como o tumor de células da granulosa (TCG), tem sido associados à ocorrência de hiperplasia endometrial, piometra e neoplasias mamárias em cadelas.

Os objetivos desse projeto foram caracterizar e classificar diferentes tipos de alterações histopatológicas ovarianas de cadelas, a partir de amostras oriundas do Setor de Anatomia Patológica Veterinária da UFF, e verificar possíveis associações com alterações histopatológicas em amostras uterinas e mamárias do mesmo animal.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho incluiu amostras histológicas, coradas pela técnica de rotina de Hematoxilina-Eosina (HE), de ovários de 192 cadelas adultas a idosas (entre 1 a 18 anos, média de 9,2 anos), de diferentes raças, arquivadas no Setor de Anatomia Patológica Veterinária da UFF. Destes 192 casos, 136 apresentavam também amostras de útero e mama em arquivo, enquanto 56 apresentavam apenas amostras de ovários e útero, sem amostras de mama. A pesquisa recebeu aprovação da CEUA/ UFF.

Na avaliação histopatológica dos ovários de 192 cadelas foi observado, de forma isolada ou conjunta: cistos e hiperplasia de estruturas epiteliais subsuperficiais, cistos de inclusão epitelial, cistos de rede ovariana (ou rede ovariana cística), hiperplasia de rede ovariana, cistos de ductos e túbulos mesonéricos, hiperplasia das glândulas intersticiais ou hiperplasia cordonal de células da granulosa, corpo lúteo cístico, cistos foliculares, cisto luteinizado, adenoma, adenocarcinoma e cistadenoma ovariano, disgerminoma, teratoma, tecoma e TCG.

As alterações císticas foram predominantes e, dentre elas, os cistos de estruturas epiteliais subsuperficiais foram os

mais frequentes - 39,58% dos casos (76/192). Houveram casos em que o ovário apresentou mais de um tipo de cisto. Segundo Kumar e colaboradores (2019), os cistos ovarianos são comumente encontrados em cadelas idosas, porém com evolução silenciosa. O TCG foi a segunda alteração ovariana mais frequente - 39,06% dos casos (75/192) e a hiperplasia de rede ovariana foi a terceira mais frequente - 34,38% dos casos (66/192).

As alterações histológicas uterinas compreenderam cistos endometriais ou miometriais isolados, adenomiose, hiperplasia endometrial cística ou não, complexo hiperplasia endometrial cística-piometra, endometrite, hemorragia endometrial, hemometra, piometra ou mucometra, leiomioma e leiomiossarcoma.

O TCG ocorreu de forma frequente - 77,33% dos casos (58/75), em conjunto com hiperplasia endometrial, cística ou não, e piometra. De acordo Oviedo-Peñata e colaboradores (2020), a frequência de tumores ovarianos em cadelas é referida na literatura como baixa porque o diagnóstico comumente não é feito, devido à coexistência de alterações uterinas, como a piometra, que mascaram o diagnóstico primário. Nas cadelas deste estudo, foi observado que os TCG apresentaram proliferação de células neoplásicas com distribuição difusa ou focal e padrão histológico variando de folicular, sertoliforme, ou em ninhos, por vezes evidenciando a formação de corpúsculos de Call Exner.

As alterações histopatológicas de mama compreenderam hiperplasia mamária, adenoma mamário, tumor misto benigno de mama, carcinoma em tumor misto de mama, carcinoma tubular, carcinoma papilar,

carcinoma *in situ*, carcinoma sólido, carcinoma anaplásico, carcinosarcoma e osteossarcoma primário de mama. Dos 136 animais avaliados para alterações mamárias, somente 64 (47,05% dos casos) apresentavam lesões ovarianas caracterizadas em literatura como produtoras de hormônio.

CONCLUSÕES

Cadelas adultas a idosas (idade média de 9,2 anos) apresentam alterações ovarianas de origem celular diversificada: células epiteliais, foliculares, intersticiais e germinativas.

Tumores de células da granulosa são frequentes em ovários de cadelas adultas a idosas.

A ocorrência de tumor de células da granulosa nos ovários das cadelas em conjunto com hiperplasia endometrial, cística ou não, e piometra é frequente.

Cistos de estruturas epiteliais subsuperficiais, tumor de células da granulosa e hiperplasia de rede ovariana são as lesões predominantes nos ovários de cadelas adultas a idosas.

Cadelas adultas a idosas com alterações ovarianas não produtoras de hormônio também podem apresentar neoplasias mamárias, incluindo carcinomas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KUMAR, D. et al. Follicular Cyst in Bitches. J. Anim Health Prod:7, 38-42, 2019.

OVIDIO-PEÑATA, C.A. et al. Concomitant presence of ovarian tumors (teratoma and granulosa cell tumor), and

pyometra in an English Bulldog female dog: a case report. Front Vet Science: 6, p.500, 2020.

AGRADECIMENTOS

A Proppi/UFF pela oportunidade de aprendizado na iniciação científica; ao CNPq pelo auxílio financeiro concedido; e ao Setor de Anatomia Patológica Veterinária/UFF e à Prof^a Marcela Mello, pela oportunidade de participação no projeto.





Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias

Título do Projeto: HIDROXIMETILFURFURAL NO MEL: UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA.

Autores: Bruno Soares Toledo; Andrea Gemal; Eliane Teixeira

Mársico.

Departamento/Unidade/Laboratório: Tecnologia dos Alimentos - MTA / Faculdade de Medicina Veterinária / Laboratório de Controle Físico-Químico de POA

INTRODUÇÃO:

O mel é um produto doce e natural, de alto valor nutricional, produzido por abelhas melíferas (*Apis mellifera*), composto principalmente de água e carboidratos, além de conter compostos nitrogenados, ácidos orgânicos e outras substâncias fitoquímicas. O processamento tecnológico, as condições de armazenamento e o tempo de estocagem afetam a composição e podem comprometer a qualidade devido, em especial, a presença de Hidroximetilfurfural ou 5-hidrometilfurfural (um anel furânico com grupos funcionais aldeído e álcool) (SHAPLA et al., 2018). O consumo de produtos com altos níveis de HMF expõe a população ao risco de toxicidade ao organismo, com efeitos citotóxicos, organotóxicos, genotóxicos e mutagênicos (SPANIO et al., 2009b).

Este projeto se justifica pela relevância em monitorar o mel, produto consumido de forma ampla e crescente pela população como alimento e/ou medicamento, pois ao analisar quantitativamente o HMF, principal foco, que foi

correlacionado com a cor e demais análises relacionadas a presença de fraude, contribui-se para estimular a fácil, rápida e de baixo custo aplicação de análises que garantem a qualidade dessa matriz alimentar.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram analisadas 34 amostras de mel sem rotulagem (ANR – Amostras não registradas) obtidas em estabelecimentos comerciais e de vendedores não legalizados na região entre os municípios de Itatiaia, Resende, Penedo e Visconde de Mauá, todas no Estado do Rio de Janeiro; e 20 amostras (AR – Amostras registradas) obtidas em casas de Mel, totalizando 54 amostras. Para avaliar possíveis falhas de armazenamento, envelhecimento e uso de altas temperaturas, avaliou-se a produção de 5-HMF, em todas as amostras, correlacionando com a cor e com pH. Presença de fraude por adição de glicose foi também avaliada em todas as amostras.

A partir das análises, destacam-se os resultados mais expressivos de acordo com cada estudo:

os valores de pH, que podem indicar formação de ácido glucônico no mel ou a presença de substâncias fenólicas (aumento da acidez), variou entre 3,72 e 4,3 ($\Delta=0,58$). Essa alta acidez pode estar relacionada e presença de ácidos orgânicos da fonte vegetal e que contribuem para agregar valor ao produto pela atividade antioxidante que apresentam, Atividade de água (Aa), que determina a água disponível para reações químicas, enzimáticas e microbianas, nas amostras registradas (AR), variou de 0,551 o menor valor e 0,612 o maior valor ($\Delta=0,061$). Nas amostras não registradas (ANR), observou-se variação foi entre 0,589 e, o maior valor, foi 0,699 ($\Delta 0,11$). A baixa atividade de água do produto garante a natureza sua orgânica.

Para HMF, nas amostras não registradas (ANR) armazenadas por 6 meses, os resultados obtidos foram: 19 amostras ND (não detectável), equivalente a (~55,88%); 7 amostras com valores ~20 mg/Kg (~20,58%); 4 amostras ~10 mg/Kg (~8,82%); 3 amostras ~30mg/Kg (~8,82%) e 1 amostra ~50mg/Kg (~2,94%). Já as amostras registradas (AR), 22 foram classificadas como ND (~91,66%) e duas apresentaram resultados semelhantes a 10 mg/Kg (~8,33%). Entretanto, após 1 ano de armazenamento, as amostras adquiridas em Nova Friburgo (n=14), apresentaram resultados positivos, com valores ~70 mg/Kg, indicando maior deterioração do produto. Vale ressaltar que utilizou-se como parâmetro a tabela de cores de Bianchi, a qual apresenta classificação colorimétrica graduada em cinco categorias, sendo elas: 0 - 10 mg/Kg; 11-20 mg/Kg; 21-40 mg/Kg; Mais de 40 mg/Kg; Mais de 70 mg/Kg.

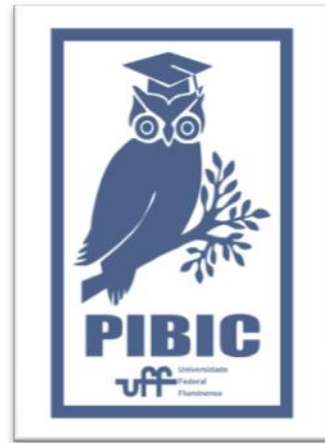
Apesar das amostras de cor mais escuras coincidir com as de mais elevados valores de 5-HMF, esse fator pode ser também atribuído a formação de melanoidinas, em função da reação de maillard.

CONCLUSÕES:

A fácil aplicação dos métodos analíticos utilizados no presente estudo sugere uma enorme facilidade de aplicação em todos os setores que fiscalizam, por cada profissional que atua como responsável técnico, garantindo ao consumidor que adquira produtos idôneos e de qualidade. Pode-se constatar que méis comercializados sem selo de inspeção (SIF, SIE ou SIM), apresentaram 40% mais possibilidade de fraude por adição de glicose comercial. Também, foi possível observar que após 1 ano de armazenamento em temperatura ambiente (não controladas devido a pandemia) houve produção de 5-HMF em limites superiores àqueles recomendados pela legislação vigente. É preciso garantir a qualidade e inocuidade deste POA, como boas práticas de fabricação (BPF), condições adequadas de armazenamento, transporte, estocagem em estabelecimentos comerciais e ainda a importância do binômio tempo x temperatura. Além disso, como o mel é considerado um dos alimentos mais fraudáveis no país, podendo-se especular que, com mínimos esforços podem ser controlados casos de fraude e comércio ilegal deste produto. Visto que uma das aplicações do mel pelo consumidor é como medicamento, torna-se necessário que o mesmo seja livre de fraudes e com garantia de qualidade.

AGRADECIMENTOS:

Inicialmente quero enfatizar a importância da ciência, bem como os incentivos à pesquisa em diferentes níveis de ensino (graduação e pós-graduação), principalmente no atual contexto de Pandemia causado pelo COVID-19. Por fim, agradeço a UFF pela formação em Medicina Veterinária, a Proppi pela oportunidade do projeto, ao CNPq pelo apoio financeiro e a minha Professora/Orientadora por todo conhecimento transmitido, pela credibilidade, crescimento profissional e pessoal durante todo o período de realização deste projeto.





CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA E DA EXPRESSÃO DO MARCADOR BIOLÓGICO PCNA EM NEOPLASIAS EPITELIAIS CUTÂNEAS DE CÃES E GATOS

CARINA DA SILVA ANDRADE, MAYSÁ ANDREOLA DE QUEIROZ VAZ, JULIANA DA SILVA LEITE, ANA MARIA REIS FERREIRA, KASSIA VALÉRIA GOMES COELHO DA SILVA

**SETOR DE ANATOMIA PATOLÓGICA VETERINÁRIA.
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E CLÍNICA VETERINÁRIA.
UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE**

INTRODUÇÃO:

Atualmente, pode-se observar que os animais de companhia são cada vez mais próximos afetivamente dos humanos, conseqüentemente, os cuidados e tratamentos aos animais são maiores. Desta forma, a expectativa e qualidade de vida são maiores, influenciando na maior aparição de doenças relacionadas à longevidade dos pacientes, como por exemplo, aumento de casos de neoplasias (Ferreira, 2017). As lesões neoplásicas e pré-neoplásicas são caracterizadas pela multiplicação celular em excesso que ocorre devido ao aumento descontrolado da fase mitótica do ciclo celular (Kesarkar et al, 2018). O antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) é a proteína relacionada ao ciclo celular (Wang et al, 2021). Esta proteína funciona auxiliando no processo da replicação, reparo e montagem da cromatina do DNA (KIM, 2019); sua expressão auxilia na avaliação do comportamento do tumor, e é detectada através de métodos de imuno-histoquímica. O objetivo deste estudo foi analisar a relação entre o caráter de malignidade de tumores de pele de cães e gatos

e a resposta ao marcador de proliferação celular (PCNA) por meio da imuno-histoquímica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Foram selecionados oito nódulos neoplásicos de pele de cães e gatos do Laboratório de Anatomia Patológica Veterinária, provenientes da rotina do Hospital Universitário de Medicina Veterinária Firmino Mársico Filho (HUVET-UFF), diagnosticados por meio de análise histopatológica com coloração de Hematoxilina-Eosina. Do total de neoplasias, foram diagnosticados cinco carcinomas de células escamosas (CCE), dois tricoblastomas e um tricoepitelioma. Na análise imuno-histoquímica com o anticorpo anti-PCNA, o resultado positivo, dado pelas células fortemente marcadas, foi mais numeroso nos nódulos malignos, contabilizando um total de 31% em relação ao total de 16% nas amostras benignas (Gráficos 1 e 2). Pode-se concluir que as neoplasias malignas obtiveram maior percentual de marcação positiva para o anticorpo anti-PCNA, demonstrando que a proliferação celular foi maior nas neoplasias malignas que nas benignas.

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

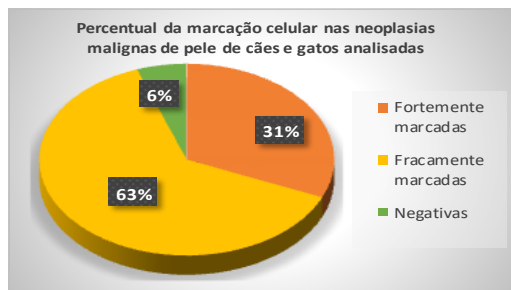
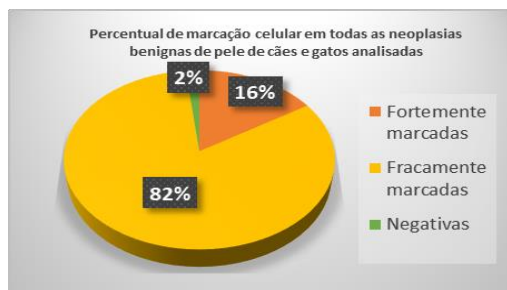


Gráfico 2: Percentual de células fortemente marcadas, fracamente marcadas e negativas no total de neoplasias epiteliais cutâneas benignas (tricoblastoma e tricoepitelioma) em cães e gatos analisadas no laboratório de anatomia patológica veterinária da Universidade Federal Fluminense em 2019.



Amemiya et al. (2010) em seu estudo sobre progressão de câncer gástrico em humanos concluíram que a expressão do PCNA foi maior nos pacientes com estágios avançados do que naqueles em estágios iniciais. Com isso, há sugestão de que nos pacientes com cânceres com maior proliferação de células neoplásicas, ou seja, com maior potencial de malignidade, a marcação do PCNA se mostrou elevada. O presente estudo corrobora, ainda, com a pesquisa de Silva et al. em 2016, sobre tumores

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

CONCLUSÕES:

As neoplasias malignas obtiveram maior percentual de marcação positiva para o anticorpo anti-PCNA, demonstrando que a proliferação celular foi maior nas neoplasias malignas que nas benignas. Mais estudos são necessários, com análise de um maior número de nódulos, a fim de verificar se realmente a maior frequência de resultados positivos em relação à proliferação celular marcada pelo PCNA é, de fato, mais elevada em neoplasias cutâneas malignas, e se esta expressão está relacionada à piores prognósticos clínicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AMEMIYA, H; MENOLASCINO, F; PENA, A. **Papel de la expresión del receptor c-Met en la progresión del cáncer gástrico.** Invest. clín, Maracaibo, v. 51, n. 3, p. 369-380, sept. 2010.

FERREIRA, M.G.P.A et al. **Abordagem ao cão e gato com câncer: qual a visão do seu tutor?.** 2017. 112 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV)- Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal. 2017.

WANG X.R. et al. **Expression and molecular mechanism of PCNA, Caspase-3, IL-6 and Survivin proteins in chorionic villi and decidual tissue of early embryo damage.** Precision Medicine Research, China, v.3, n. 2, 2021.

KESARKAR, K. et al. **Evaluation of Mitotic Figures and Cellular and Nuclear Morphometry of Various Histopathological Grades of Oral Squamous Cell Carcinoma.** Sultan Qaboos University Medicine Journal, Omã, v. 18, n.2, p.149-154, 2018.

KIM, J.; Shin, M.Y.; Park, S-J. **RNA-sequencing Profiles of Cell Cycle-Related Genes Upregulated during the G2-Phase in *Giardia lamblia*.** The Korean Journal of parasitology, Korea, v. 57, n. 2, p. 185-189, 2019.

SILVA, M.C.C. **Estudo morfológico e imuno-histoquímico da expressão de PCNA e p63 no carcinoma espinocelular oral em gatos.** Dissertação de Mestrado. Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa. 2016.





Grande área do conhecimento: CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Título do Projeto: AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ENDOMETRIAL DO ÚTERO DE ÉGUAS APÓS TERAPIA CELULAR

Autores: Gabriel Costa Gregory; Aline Emerim Pinna

Departamento/Unidade/Laboratório: MCV/FACULDADE DE VETERINÁRIA UFF/Setor de Matrizes da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ

INTRODUÇÃO:

Em vista a pandemia causada pela COVID-19, o cronograma apresentado para o projeto foi inviabilizado. Assim, adaptações foram feitas em sua temática, objetivo, metodologia e cronograma. Inicialmente, propunha-se avaliar a regeneração endometrial de éguas acometidas por endometrite após terapia celular. Para tal, estipulou-se que nos seis primeiros meses seriam realizadas a revisão de literatura, aquisição de materiais, seleção dos animais a serem utilizados, coleta de amostras para exames prévios, processamento das amostras dos exames prévios, coleta de dados para o projeto e também o processamento dos dados do projeto. Entretanto o Setor de Matrizes da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, local de realização do projeto, encontrou-se fechado durante o período em consonância com as medidas sanitárias cabíveis, impossibilitando as atividades previstas com exceção da revisão de literatura. Para a etapa de realização da terapia celular, contávamos com a colaboração do Laboratório de Neurodegeneração e Reparo

da faculdade de Medicina do Departamento de Anatomia Patológica da UFRJ, que também vem sofrendo restrições de funcionamento em vista a atual crise sanitária. Obstaculizado, o projeto precisou ser reformulado para tornar-se executável.

Isto posto, a nova proposta de temática é o estudo da diferença da hemodinâmica uterina de éguas com e sem endometrite. Previsto para ser realizado no Setor de Equideocultura da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, o objetivo geral é formar um padrão na diferenciação da hemodinâmica uterina das éguas com e sem endometrite, os objetivos específicos distinguir possíveis alterações na vascularização uterina, classificar a presença de neutrófilos polimorfonucleares e microrganismos e catalogar o grau de modificações histológicas

A endometrite equina é considerada a terceira principal doença encontrada na espécie e a causa das maiores perdas econômicas da reprodução equina com falhas gestacionais

precoce. Logo, há um aumento na procura das biotecnologias da reprodução para otimizar a reprodução tornando mais preciso o diagnóstico e a terapêutica da endometrite.

Ao considerar distúrbios vasculares como potenciais causadores de alterações degenerativas do endométrio e que tais alterações se encontram intimamente relacionadas com casos de subfertilidade em éguas, a técnica de US Doppler tem demonstrado grande importância nos programas de biotecnologia da reprodução em equinos. No entanto, não há relatos que descrevam e avaliem a aplicação do modo Doppler-espectral no diagnóstico da endometrite e nem da formação de um padrão de vascularização dos segmentos uterinos pelo modo Power-Doppler quando avaliadas éguas com ou sem endometrite. Assim, esse projeto tem como objetivo formar um padrão na diferenciação da hemodinâmica uterina das éguas com e sem endometrite.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

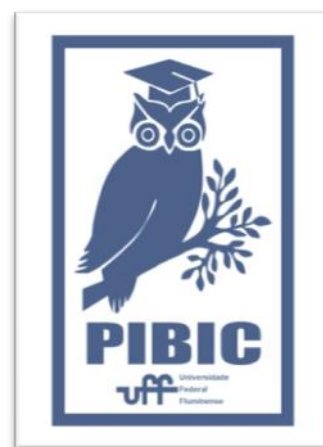
Devido ao que fora anteriormente explanado a respeito dos percalços que o projeto sofreu, ainda não há resultados sobre a pesquisa.

CONCLUSÕES:

Todo o material e equipamento necessários para a pesquisa já se encontram disponíveis para uso no Departamento de Reprodução e Avaliação Animal, do Instituto de

Zootecnia, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e no Departamento de Patologia e Clínica Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF).

A citologia uterina será realizada no Laboratório de Fisiopatologia da Reprodução no Anexo I do Instituto de Veterinária da UFRRJ. A cultura microbiológica será realizada no Laboratório de Cocos Gram positivos no Instituto Biomédico da UFF. Os fragmentos da



biopsia endometrial serão avaliados no Laboratório de Fisiologia da Reprodução no Instituto Biomédico da UFF.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço a minha orientadora Prof. Dra. Aline Emerim Pinna Professora Associada I do Setor de Diagnóstico por Imagem da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense. Também a médica veterinária MSc. Camila Silva Costa Ferreira.



CIÊNCIAS AGRÁRIAS

LEPTOSPIROSE GENITAL BOVINA: ANÁLISE BACTERIOLÓGICA E MOLECULAR DA INFECÇÃO POR LEPTOSPIRAS E SEUS EFEITOS NO TRATO REPRODUTIVO DE VACAS NATURALMENTE INFECTADAS.

JULIANA DE SOUZA PEDROSA, LUIZA AYMÉE SOARES, ANA PAULA LOUREIRO, MARIA ISABEL NOGUEIRA DI AZEVEDO E WALTER LILENBAUM.

INSTITUTO BIOMÉDICO/DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA/LABORATÓRIO DE BACTERIOLOGIA VETERINÁRIA

INTRODUÇÃO:

A leptospirose é uma zoonose infectocontagiosa de distribuição mundial. Sua ocorrência gera impactos econômicos, sanitários e sociais significativos.

A Leptospirose bovina demonstra o envolvimento do sistema reprodutivo na clínica do animal. Contudo, poucos estudos focam na detecção de animais portadores genitais da bactéria. A presença de leptospiras em ovários e ovidutos; no útero; secreção vaginal e sêmen confirmam que o trato genital é um importante sítio extra-renal de leptospiras.

Estudos demonstram a prevalência de estirpes do sorogrupo Sejroe nos rebanhos com surtos de abortamento, subfertilidade e morte embrionária precoce.

Portanto, esse trabalho objetiva analisar a leptospirose genital bovina por meios bacteriológicos e moleculares, além de identificar as estirpes infectantes e seus efeitos no trato reprodutivo de vacas naturalmente infectadas,

tendo em vista seu impacto social, econômico e sanitário.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Esse projeto foi aprovado pelo CEUA da Universidade Federal Fluminense (protocolo 1025/2017). O estudo foi conduzido em rebanhos comerciais que apresentavam histórico de problemas reprodutivos, positivos para presença de *Leptospiras* sp, através de uma triagem sorológica. Foram selecionadas 35 fêmeas destinadas ao descarte devido à baixa eficiência reprodutiva, as quais não possuíam diagnóstico definitivo para outras enfermidades ou alguma alteração no trato genital. Desses animais foram colhidas amostras de sangue (sorologia para MAT), urina (cultivo e PCR), muco cérvico-vaginal (cultivo e PCR) e fragmento uterino (cultivo e PCR).

As amostras de sangue foram coletadas e mantidas sob refrigeração e posteriormente centrifugadas, a fim de se obter o soro. O soro em sequência foi estocado à temperatura de -20°C para realização dos testes sorológicos. A

urina foi obtida através de sondagem uretral, enquanto o muco foi coletado por uma escova citológica na cérvix vaginal. O fragmento uterino foi colhido utilizando uma pinça de Yeoman. Todas as amostras de urina, muco e fragmento uterino foram cultivadas em meio T80/40LH e meio T80/40LH + coquetel antimicrobiano a campo e devidamente transportadas ao laboratório. A PCR foi realizada visando o gene *lipL32*, exclusivo de leptospiros patogênicas. As amostras positivas para *lipL32* foram submetidas à amplificação do gene *secY* e sequenciamento do nucleotídeo.

No total foram coletadas 35 amostras de sangue, 34 de urina, 35 de muco cérvico-vaginal e 10 fragmentos uterinos. Dentre elas, sete (20%) amostras de sangue apresentaram títulos ≥ 100 , sendo, desse modo, positivas para presença de anticorpos contra *Leptospira* sp, sendo Sejroe o sorogrupo predominante. Das amostras coletadas, duas de urina (5,9%), três (8,5%) de muco cérvico-vaginal e quatro das dez (40%) amostras de fragmento uterino analisadas foram positivas na reação da PCR. É importante destacar que amostras positivas para muco cérvico-vaginal, biópsia uterina e sorologia não apresentaram positivas na urina.

Dentre as amostras cultivadas, uma (1,26%) amostra de urina obteve crescimento de *Leptospira* sp.

As amostras positivas na PCR para *lipL32* que produziram amplicons de tamanho suficiente, foram submetidas à amplificação do gene *secY* e sequenciamento do nucleotídeo. Comparações do sequenciamento obtido com o conjunto de dados do GenBank identificaram com 100% de similaridade *L. interrogans* sorogrupo Sejroe

serovar Hardjo, *L. interrogans* sorogrupo Icterohaemorrhagiae e *L. noguchii* sorogrupo Australis. Esses resultados reforçam a hipótese que sorovar Hardjo pertencente ao sorogrupo Sejroe coloniza preferencialmente o trato reprodutivo (LOUREIRO e LILENBAUM, 2020) e está associado a forma crônica e silenciosa da doença.

Dessa forma, esse projeto foi o primeiro a utilizar o animal in vivo e correlacionar a baixa eficiência reprodutiva com a presença de *Leptospira* sp. no trato genital, visto que a maioria dos estudos envolvendo animais portadores genitais da bactéria ocorreram em abatedouros, sem que houvesse informação a respeito do histórico reprodutivo de cada animal.

CONCLUSÕES:

O presente estudo demonstrou que o trato reprodutivo pode ser um sítio primário de infecção por *Leptospiras* sp. Dessa forma, o isolamento da bactéria e a identificação do sorovar infectante são dados epidemiológicos importantes para orientar ações voltadas a profilaxia e controle da doença, além de ajudar a entender o impacto da infecção na reprodução bovina.

Além disso, esses resultados demonstram a importância do diagnóstico de portadores genitais, visto que a leptospirose bovina causa distúrbios reprodutivos e esta doença pode ser subdiagnosticada quando somente amostras de urina são analisadas.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço ao CNPq pelo apoio financeiro e a toda equipe do Laboratório de Bacteriologia Veterinária pelo incentivo e ajuda nas coletas e processamento das amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LOUREIRO, A.P.; LILENBAUM, W. Genital bovine leptospirosis: a new look to an old disease. *Theriogenology*, v.141, p.41-47, 2020.

