

CIÊNCIAS AGRÁRIAS

REVISTA PIBIC 2020





Agrárias

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

Aysha Costa Rangel, Arthur de Almeida Figueira, Leandro dos Santos Machado, Thomas Salles Dias, Dayse Lima da Costa Abreu, Willker Menezes Rocha, Nathalie Costa da Cunha, Elmiro Rosendo do Nascimento, Virginia Léo de Almeida Pereira

MSV/Faculdade de Veterinária

INTRODUÇÃO:

Galinhas caipiras são aquelas criadas em sistemas extensivos ou semi-extensivos e que não recebam melhoradores de desempenho ou anticoccidianos profilaticamente (ABNT, 2016). O mercado de consumo de galinha caipira no Brasil é uma tendência em função da busca dos consumidores por produtos de origem não industrializada (SEBRAE, 2014).

Apesar da melhora geral nos índices de bem estar da produção caipira, a propagação de doenças é uma realidade neste tipo de criação. Dentre as doenças de relevância na avicultura destacam-se, especialmente, as que afetam o sistema respiratório das aves, por causarem impacto sobre o custo na produção. *Mycoplasma gallisepticum* (MG) é considerada a principal espécie de micoplasma que acomete as aves e está presente nos plantéis brasileiros de poedeiras comerciais (ARMOUR, 2020; SILVA et al., 2020), mas a prevalência na avicultura alternativa é pouco conhecida. Dentre as diferentes ferramentas diagnósticas, a

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), associada à análise dos dados zootécnicos e sinais clínicos, vêm sendo de grande valia no diagnóstico epidemiológico da micoplasmose aviária (NASCIMENTO et al., 2020). O objetivo deste estudo foi investigar pela PCR e pela Nested PCR a infecção por MG em galinhas caipiras com sinais clínicos respiratórios no estado Rio de Janeiro, Brasil.

Foram coletadas, com auxílio de suabe, amostras da traqueia de 20 galinhas (cinco galinhas por lote) de quatro lotes (A, B, C, D) em uma granja caipira no Rio de Janeiro. A extração do DNA das amostras foi realizada de acordo com Sambrook et al. (1989) e a detecção de MG, segundo a PCR descrita por Nascimento e Yamamoto (1991). Amostras negativas a primeira PCR foram testadas em uma Nested-PCR conforme Barros et al. (2014). Os produtos da PCR foram aplicados com Gel Red® na proporção de 1:1 em gel de agarose a 1,5% e submetidos à corrida eletroforética (100volts/40minutos) com posterior visualização sob luz ultravioleta em transiluminador.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Dentre as 20 aves testadas para a detecção de MG, 11 foram positivas. À Nested PCR, foi possível detectar nove galinhas positivas enquanto pela PCR convencional foram observadas apenas duas. A PCR não foi suficiente para detectar aves positivas nos lotes C e D, enquanto pela Nested PCR foram identificadas três aves positivas no lote três e uma no lote quatro (Tabela 1). Trabalho anterior já havia demonstrado maior sensibilidade da Nested-PCR quando comparada à PCR convencional na detecção de *Mycoplasma synoviae* (BARROS et al., 2014), o que foi confirmado neste trabalho com MG.

Tabela 1 Número de galinhas caipiras positivas para *Mycoplasma gallisepticum* por PCR convencional e Nested-PCR

Lote	PCR Convencional	Nested PCR	Total
A	1	2	3
B	1	3	4
C	0	3	3
D	0	1	1
TOTAL	2	9	11

CONCLUSÕES:

A técnica Nested PCR foi capaz de detectar MG em maior frequência que a PCR convencional nos lotes de galinhas caipiras, demonstrando ser mais eficiente no diagnóstico desta infecção. Foi possível constatar a presença de MG nas

galinhas caipiras com sinais clínicos respiratórios, o que evidencia a importância do controle desse agente neste tipo de criação

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT NBR 16437 – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS: Avicultura – produção, classificação e identificação do ovo caipira, colonial ou capoeira. 2016. 9 p.

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.

BARROS, M.; NASCIMENTO, E.R.; SILVA, J.S.A.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; SANTOS, S.B.; MACHADO, L.S.; SILVA, R.C.F.; MOTA, R.A. Occurrence of *Mycoplasma synoviae* on commercial poultry farms of Pernambuco, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 34(10):953-956

NASCIMENTO, E. R.; YAMAMOTO, R. Simplification of *Mycoplasma gallisepticum* - polymerase chain reaction. In: WESTERN POULTRY DISEASE CONFERENCE, 40,1991, Acapulco. Anais... Acapulco, México: 1991, p. 94-95.

SAMBROOK, J., FRITSCH, E. F., MANIATIS, T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. O Mercado e a produção de galinha caipira no Brasil. Disponível em <<https://respostas.sebrae.com.br/mercado-e-producao-de-galinha-caipira-no-brasil/>>, 2014. Acessado em 13 de dezembro de 2019.

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 Ciências Agrárias

Título do Projeto Avaliação hemostática em cadelas com neoplasia mamária maligna com ou sem tratamento quimioterápico

Autores Newton Mello de Andrade Filho; Carla Gabriela Bomfim Palermo; Janaina Oliveira de Mello; Rosemeri da Silva Teixeira;

Maria de Lourdes Gonçalves Ferreira; Márcia de Souza Xavier; Aline Moreira de Souza

Departamento de Patologia e Clínica Veterinária/ Faculdade de Veterinária/ Laboratório Clínico Veterinário do Hospital Universitário de Medicina Veterinária Professor Firmino Mársico Filho

INTRODUÇÃO:

A neoplasia mamária é a neoplasia de maior incidência em cadelas. As alterações hemostáticas em neoplasias ocorrem devido à intensa gama de citocinas inflamatórias, gerando trombos e coagulação intravascular disseminada (CID). *Fatores de crescimento derivados de plaquetas são frequentemente produzidos em grandes quantidades por células cancerígenas e contribuem para sua progressão.* Índices plaquetários são aqueles fornecidos por analisadores hematológicos automatizados. Entre estes, o Volume Plaquetário Médio (MPV) e o índice de anisocitose plaquetário (PDW) geram informações sobre ativação plaquetária. Tempo de Protrombina (TP) e Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA) são testes que avaliam a hemostasia secundária. Estes exames são raramente solicitados nos atendimentos veterinários, embora sejam de grande importância para diagnosticar alterações

hemostáticas. Desse modo, o objetivo deste estudo foi avaliar as variações na plaquetometria, nos índices plaquetários e no TP e TTPA em cadelas com neoplasia mamária maligna. O estudo foi aprovado no CEUA (). Participaram do estudo cadelas com neoplasia mamária maligna em estadiamento I a III (Owen et al, 1980) atendidas no Hospital Universitário de Medicina Veterinária Professor Firmino Mársico Filho (HUVET/UFF), cujos tutores consentiram. Foram coletadas amostras sanguíneas por venopunção cefálica ou jugular de dois a cinco mL de sangue para hemograma, respeitando-se o volume máximo de coleta de sangue de animais (10% do volume de sangue, correspondente a 10% do peso vivo). As amostras foram alíquotadas em tubos contendo EDTA para realização da plaquetometria e índices plaquetários e em tubos contendo citrato de sódio para TP e TTPA. As amostras seguiram em até 30 minutos após a coleta para o Laboratório Clínico Veterinário do HUVET/UFF (LABHUVET/UFF) onde foram processadas. Esfregaços sanguíneos foram confeccionados

em até 30 minutos após a coleta, sendo analisados em microscopia de imersão (aumento de 1000x), após coloração com corante instantâneo para verificação de possíveis alterações morfológicas nas plaquetas. Os hemogramas foram realizados por método automatizado (Mindray – modelo BC-2800Vet) para obtenção da plaquetometria e dos índices plaquetários. Os testes de TP e TTPA foram realizados em coagulometro CloTimer® laser sensor, com reagentes de TP, TTPA e fibrinogênio (Clot®) por método semi-automatizado.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Assim como relatado por outros autores, a plaquetometria esteve dentro dos valores de referência (200 a 700 x 10³/μL), o que pode evidenciar que o valor para trombocitose esteja superestimado, uma vez que fatores de crescimento hematopoiético liberados ou induzidos por tumores, podem contribuir para trombocitose (DUDA et al, 2017). Com relação aos índices plaquetários, 46,2% (n=6/13) dos pacientes apresentaram valores de PDW aumentados (PDW - 10,66 a 15,05 fl) e 61,5% (n=8/13) apresentaram valores de MPV diminuídos (MPV – 7,52 a 16,36 fL). Várias citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral-α, interleucina-1 e interleucina-6 são reguladas positivamente concomitantemente com a progressão do tumor. Essas citocinas geram produção e liberação de plaquetas imaturas com várias características e tamanhos no sistema circulatório em decorrência de uma hiperplasia megacariocítica

heterogênea, aumentando o índice PDW (TAKEUCHI et al., 2017), como observado nesse estudo. A elevação dos valores de PDW foi observada em mulheres com neoplasia mamária e relatado como um fator de prognóstico desfavorável (TAKEUCHI et al., 2017; HUANG et al, 2018). Associado a isso, estudos recentes em humanos demonstraram que pacientes com neoplasia mamária com metástase hepática tiveram níveis de MPV diminuídos em relação aos pacientes com neoplasia mamária sem metástase (Li et al, 2019). Diminuição do MPV também foi observada nesse estudo. Entretanto o papel do MPV nessa avaliação é controverso, já que outros estudos associaram o aumento do MPV a prognóstico desfavorável em casos de neoplasia mamária em mulheres (TAKEUCHI et al, 2017). Estudos em animais com neoplasia mamária relatando estes índices não foram encontrados. Todos os pacientes avaliados apresentaram resultados de TP e TTPA dentro dos valores de referência para espécie (TP - 6s a 12s; TTPA - 10s a 24s), demonstrando ausência de alterações na hemostasia secundária. Variações discretas em TP sem variação do TTPA foram observadas em cadelas com neoplasia mamária (DUDA et al, 2018). Tanto o PDW elevado sugere possível prognóstico desfavorável, indicando elevada produção de fatores de crescimento pelas células cancerígenas, e conseqüente progressão da neoplasia mamária, como o MPV pode indicar ativação plaquetária por interação, direta ou indireta, com células tumorais, demonstrando a atividade das células cancerígenas. Os resultados obtidos são

promissores e o estudo terá continuidade para aumentar o número de pacientes avaliados.

CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos não permitem avaliar o prognóstico das pacientes estudadas. Mas as alterações observadas indicam que como em humanos, a interpretação do coagulograma *pode contribuir na análise prognóstica de cadelas com neoplasias mamárias*

AGRADECIMENTOS:

A PROPPI-UFF.

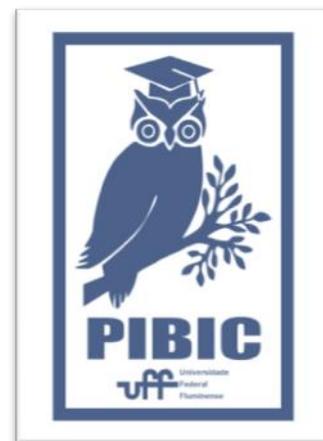


Imagem 1: Imagem PIBIC



CIÊNCIAS AGRÁRIAS / MEDICINA VETERINÁRIA

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES FONTES DE PROGESTÁGENOS EM PROTOCOLO DE SUPEROVULAÇÃO EM OVELHAS DESLANADAS

ANA BEATRIZ DA SILVA CARVALHO, AUGUSTO RYONOSUKE TAIRA, FELIPE ZANDONADI BRANDÃO

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

INTRODUÇÃO:

Em sistemas de produção de ovinos, o impacto da produção *in vivo* de embriões é evidente nos programas de melhoramento genético, zootécnicos e sanitários, bem como no resgate e conservação de espécies ameaçadas de extinção (Oliveira, 2011).

Existem diversos fatores que podem influenciar a taxa de ovulação e a produção de embriões em ovelhas, como o número e intervalo entre aplicações, a proporção de FSH/LH do produto comercial, tratamentos hormonais prévios e, principalmente, a dose total utilizada (Magalhães et al., 2009). Por esse motivo, esforços são dedicados para o aprimoramento de protocolos hormonais visando a superovulação (SOV). Dentre as estratégias visando alcançar maior homogeneidade e otimização das respostas superovulatórias, temos o surgimento do protocolo do dia zero (D0) desenvolvido por Menchaca et al. (2002), isto é, a sincronização da ovulação para iniciar a superovulação na primeira onda folicular, quando não há folículos dominantes, mostrou-se

eficiente, aumentando em média 2 embriões por protocolo.

Dentro desse contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da fonte de progesterona durante o protocolo de superovulação baseado no dia 0 do ciclo estral sobre a dinâmica de desenvolvimento folicular e a produção de embriões ovinos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram utilizadas 36 ovelhas da raça Santa Inês para o estudo. O estro foi sincronizado com a inserção de uma esponja intravaginal contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP), mantido *in situ* por 6 dias. No 5º dia, foram aplicados por via intramuscular 0,24 mg de cloprostenol sódico e 300 UI de gonodotrofina coriônica equina. No 6º dia, a esponja intravaginal foi retirada e 36 horas depois foi aplicado por via intramuscular 0,025mg de acetado de gonadorelina.

O tratamento de superovulação foi realizado 80h após a remoção da esponja, com 133 mg pFSH

que foram administrados em seis doses decrescentes com intervalo de 12h (Santos et al., 2020). No momento da 1ª dose de FSH, os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos experimentais (n=12/grupo). O primeiro grupo recebeu um implante de medroxiprogesterona (G_{MAP}), o segundo recebeu um implante de progesterona análoga à natural (G_{P4}) e o último não recebeu nenhum implante de progestágeno durante o tratamento de superovulação ($G_{controle}$). Os dispositivos intravaginais permaneceram *in situ* até a 5ª dose de FSH. Na 6ª dose de FSH, foi administrado 0,24 mg de cloprostenol sódico e 12h após os animais receberam 0,025 mg de acetato de gonadorelina. Foram realizadas detecções de estro com cinco carneiros e monta natural controlada, duas vezes ao dia, a partir da 5ª dose de FSH.

Para a contagem de corpos lúteos (CLs), foi realizado um laparoscopia com intuito de mensurar a taxa de recuperação de embriões nos três grupos e a coleta de embriões foi realizada pelo método cirúrgico de acordo com o descrito por Pinto et al. (2020).

No grupo controle ($G_{controle}$) foram produzidos, em média, 6 corpos lúteos por ovelha, considerando ambos os ovários, já o grupo que recebeu o implante de medroxiprogesterona (G_{MAP}) gerou uma média de 7,73 CLs e o grupo do implante de progesterona natural (G_{P4}) produziu a média de 8,18. Na comparação entre os grupos não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) na quantidade de corpos lúteos.

Após o procedimento de laparotomia, lavagem e coleta dos embriões foram avaliadas e contabilizadas uma taxa de recuperação média em cada grupo sendo 44,53% para o $G_{controle}$, 62,43% para o G_{MAP} e 62,51% para o G_{P4} . Os valores das taxas de recuperação por animal entre os grupos tratados não diferiram significativamente ($P>0,05$).

No grupo controle foi recuperado em média 1 embrião viável por ovelha, já no que recebeu tratamento com o implante de medroxiprogesterona foi recuperado, uma média de 1,91 embriões e no grupo que recebeu progesterona natural, a média de 3,27 embriões por ovelha, não gerando assim uma diferença significativa ($P>0,05$). Levando em conta a viabilidade, observamos no grupo controle, no grupo MAP e no grupo P4 uma taxa, respectivamente, de 24,45%, 49,90% e 71,87% dos embriões. Em termos de taxa de viabilidade houve uma diferença estatística ($P<0,05$) enquanto que em número de embriões viáveis por ovelha não gerou diferença estatística ($P>0,05$).

CONCLUSÕES:

Considerando avaliação de duas diferentes fontes de progestágenos em protocolo de superovulação em ovelhas da raça Santa Inês, não apresentou diferença significativa em número de corpos lúteos coletados e número de embriões viáveis por ovelha, porém em termos de viabilidade, o protocolo de tratamento com progesterona natural gerou diferença estatística, concluindo assim que a administração da fonte exógena de progesterona ($P4$) durante

protocolos de superovulação melhora a taxa de viabilidade de embriões.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro para a realização do presente estudo. Ao Grupo de Estudo, Pesquisa e Extensão em Caprinos e Ovinos (GEPECO) por me proporcionar toda a vivência e aprendizado na área de pequenos ruminantes. O doutorando Augusto Ryonosuke Taira, pela paciência e atenção, e ao meu orientador Prof^o Felipe Zandonadi Brandão, por todo comprometimento e zelo com este e outros projetos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

MAGALHÃES, D. M. et al. Role of Follicle Stimulating Hormone in folliculogenesis in vivo and in vitro. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.33, n.4, p.171-182, 2009.

MENCHACA, A.; PINCZAK, A.; RUBIANES, E. Follicular recruitment and ovulatory response to FSH treatment initiated on Day 0 or Day 3 postovulation in goats. *Theriogenology*, v.58, p. 1713-1721, 2002.

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

PINTO, P. H. N. et al. Successive *in vivo* embryo production in Santa Inês sheep. *Animal Production Science*, v. 60(4), p. 497-502, 2019.

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.



**GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PESQUISA DE MERCADO: OS DESAFIOS NO
DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS ALIMENTÍCIOS
SEM PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL**

**AUTORES: GABRIELA TAVES DE MOURA; VÂNIA MAYUMI
NAKAJIMA; KAROLINA DECNOP SOARES; JONY ARRAIS PINTO JÚNIOR
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E DIETÉTICA/FACULDADE DE NUTRIÇÃO**

INTRODUÇÃO:

Uma dieta vegetariana tem sido relatada como uma opção saudável, sendo associada com riscos reduzidos de doenças. No entanto, exige atenção para possíveis deficiências nutricionais. O presente trabalho tem como objetivo analisar a disponibilidade e a qualidade da oferta desses alimentos, além de avaliar a opinião da população a respeito desses padrões alimentares, visando desenvolver um produto nutricional e sensorialmente adequado para esse público.

Esse trabalho foi realizado em três etapas. A primeira foi a análise dos produtos existentes para esse público no mercado, pela coleta de preços, tabela nutricional e lista de ingredientes por meio de buscas online. A segunda etapa foi um grupo focal, o que possibilita uma análise qualitativa do assunto. A última foi uma pesquisa de mercado objetivando analisar a visão da população a respeito do vegetarianismo e veganismo. utilizando um formulário online.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

No total, foram coletados dados de 100 produtos, sendo 40 substitutos de laticínios, 34 de carne e 26 opções variadas, como lanches (barrinhas e biscoitos), doces, suplementos e maionese.

Dentre todos os citados, o maior número estava nos extratos vegetais (27), no qual os principais ingredientes base encontrados foram: castanha de caju (9), coco (8), arroz (7) e amêndoa (4). Por serem ingredientes diferentes, a composição nutricional do produto varia, sendo os de arroz mais ricos em carboidrato e os demais em gordura. Considerando o aspecto econômico, a média dos extratos líquidos foi de R\$21,63/L \pm 5,89 sendo sete vezes maior do que o preço do leite de vaca in integral UHT (R\$2,99/L). Observou-se que os extratos vegetais líquidos mais caros utilizavam menos aditivos.

Os substitutos cárneos possuíam um alto teor de carboidrato, nutriente não encontrado nas carnes tradicionais. Na quantidade de proteínas, a média dos produtos foi de 20,05g/100g, porém a mediana foi de

12,6g. Considerando que a quantidade de proteína em uma carne é de 20g/100g, apenas 9 produtos atingiram esse valor. Os outros 25 estão abaixo, variando de 1,7g à 19,5g. Os ingredientes base mais encontrados foram: soja (20), glúten de trigo (8), quinoa (7) e batata (6). O preço médio do quilo foi de R\$60,96 ±20,97, sendo o mais barato a proteína de soja texturizada por R\$23,8/Kg e o mais caro a picanha vegetal por R\$114/Kg. As variações de preço e de tipos de preparação são grandes, sendo bem mais caras do que as carnes tradicionais.

O grupo focal realizado avaliou a resposta de diferentes pessoas, com alimentações diversas, sobre a mesma pergunta. Ao longo do tempo, as perguntas mais debatidas foram “Os onívoros reduziram o consumo de carne? Se sim, para quanto? Se não, por que não?” e “Ser vegetariano é caro?”. Uma das afirmações que mais chamou atenção foi a respeito do consumo de carne como entretenimento: “Eu percebo que o consumo de carne se tornou até um entretenimento pra gente, por exemplo o rodízio de carne. Eu, hoje, acho muito estranho você ter um rodízio de carne. Então o consumo passou de necessidade para entreter.” Ao final do grupo, quando foi mostrado aos participantes alguns produtos de origem vegetal, o que mais despertou o interesse de todos foi o “Queijo muçarela de castanha de caju”.

A pesquisa de mercado, feita via Google forms, obteve 574 respostas. A amostra foi composta, na sua maioria, por mulheres (78%), com idade média de 29,4 anos e 90,6% estão cursando ou já concluíram o ensino superior. A

maior parte das respostas obtidas foram de onívoros (69,45%). Quando perguntado o tempo de dieta dos participantes (flex/veganos/ovo/lacto/vegetarianos), a maior parte já possui esse estilo de vida há mais de dois anos. Dentre os veganos e ovovegetarianos, o queijo foi apontado como o alimento que mais sentiram falta, sendo a carne de porco, o iogurte e a manteiga, os que menos fizeram falta. Na pergunta sobre acharem o vegetarianismo caro, nos grupos de veganos e vegetarianos/ovolactovegetarianos a grande maioria, 95% e 91,4%, respectivamente, acreditam que este tipo de dieta não é cara. Esse comportamento não é observado nos demais grupos.

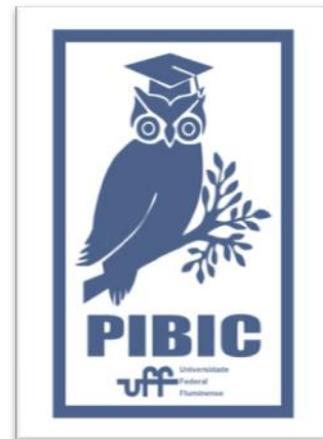
CONCLUSÕES:

Os produtos veganos e vegetarianos apresentam um preço elevado, se tornando inacessível para muitos públicos. Em algumas comparações nutricionais, pode-se notar que o produto vegano/vegetariano se assemelha muito com o tradicional, porém, na maioria, um ou mais componentes se apresentava diferente. Além da quantidade, a comparação deve ser feita também na qualidade, sendo difícil essa análise apenas com o rótulo do produto, já que, por não ser obrigatório, muitas informações não eram encontradas, como gordura mono e poli insaturada e micronutrientes em geral.

Sobre o grupo focal, de modo geral, os integrantes concordaram em muitos aspectos, tornando-o com poucas discussões. Porém as diferentes respostas e pensamentos trouxeram reflexões importantes sobre a indústria da carne.

A pesquisa de mercado englobou um número grande de respostas com pessoas de diferentes regimes alimentares, o que permitiu uma análise mais aprofundada do assunto estudado. O queijo foi um alimento muito citado no questionário e também discutido no grupo focal, mostrando então que o mesmo possui uma importante relevância na nossa cultura alimentar.

AGRADECIMENTOS: Agradecemos a colaboração de Juliana Quintana, Brenna Pereira, Júlia Nunes e Bárbara Moura que auxiliaram na coleta de dados na primeira etapa da pesquisa.





GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS AGRÁRIAS

TÍTULO DO PROJETO: AUXÍLIO AO DIAGNÓSTICO CLÍNICO DA DOENÇA ARTICULAR DEGENERATIVA FELINA

AUTORES: JULIA TELLES NABUCO DE ARAUJO; FLAVYA MENDES-DE-ALMEIDA (ORIENTADORA)

DEPARTAMENTO/UNIDADE/LABORATÓRIO: DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E CLÍNICA VETERINÁRIA / FACULDADE DE VETERINÁRIA

INTRODUÇÃO:

A doença articular degenerativa felina (DADF) é um processo não inflamatório, progressivo que acomete as articulações, geralmente levando à redução do movimento e manifestação dolorosa. A DADF é frequentemente subdiagnosticada na população de gatos idosos (11 a 14 anos) e geriátricos (acima de 15 anos). Isso se deve ao fato de que os tutores tendem a confundir os sinais clínicos demonstrados por seus animais, com sinais que acompanham o processo natural de envelhecimento. Além disso, as manifestações clínicas apresentadas pelos gatos com doença articular são sutis e comumente observadas como alterações comportamentais e de mobilidade. Ademais, frequentemente, os achados radiográficos não condizem com os sinais clínicos, tornando o diagnóstico da DADF um desafio ainda maior. Por conta disso, a observação de alterações no comportamento, na mobilidade e no estilo de vida dos animais

deve ser analisada, já que essas mudanças podem indicar redução da mobilidade gerada pela presença de dor ou desconforto articular.

Assim, sabendo-se da dificuldade de diagnosticar precoce e corretamente essa doença, elaborou-se um questionário aplicado aos tutores dos gatos, contendo perguntas sobre as alterações comportamentais ou de manejo ambiental que pudessem estar associadas à presença de DADF em gatos domésticos com idade acima de 11 anos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Foram incluídos no estudo um total de 98 gatos domésticos de estilo de vida confinado ou semiconfinado, independentemente de sexo, raça ou comorbidade e com idade igual ou superior a 11 anos. No momento da inclusão no estudo, todos os gatos encontravam-se clinicamente saudáveis. Dentre eles, 60,2% (59/98) eram fêmeas e 39,8% (39/98) machos, sendo 70,4% (69/98) idosos e 29,6% (29/98) geriátricos. Aproximadamente 29,6% dos gatos

apresentavam alguma doença previamente diagnosticada, dentre elas, a mais frequente foi a Doença Renal Crônica (DRC), correspondendo a 34,5%. Dos 98 animais, 51,0% (51/98) tiveram alguma mudança no peso corporal; nenhum apresentava histórico familiar confirmado de doenças musculoesqueléticas e dois gatos tinham doença articular previamente diagnosticada. Segundo o relato dos tutores, 78,6% (77/98) encontravam-se menos ativos ou passavam mais tempo descansando; 42,9% (42/98) dos animais estavam arranhando menos frequentemente as superfícies ou utilizando os arranhadores; 67,3% (66/98) estavam brincando menos; 28,6% (28/98) apresentavam um andar mais rígido; 48,0% (47/98) saltavam com “menor elegância” e 16,3% (16/98) demonstravam claudicação ao se movimentar, um sinal clínico evidente de manifestação dolorosa da doença articular em cães, mas que não fora observado pelos tutores dos gatos de forma significativa nesse estudo. Ao se comparar os resultados dos gatos idosos com os geriátricos, observou-se que as alterações mais frequentes e significativas foram observadas nos gatos geriátricos: subir e/ou descer as escadas ($\chi^2=11,23$; $p=0,00080$); dificuldade para pular da / para cama / sofá /colo do tutor ($\chi^2=18,32$; $p=0,00001$); dificuldade ao tentar brincar ($\chi^2=6,20$; $p=0,01272$); saltar com “menor elegância” ($\chi^2=7,28$; $p=0,00696$); passar mais tempo dormindo ou descansando ($\chi^2=7,90$; $p=0,00491$); urinar e defecar em lugares diferentes dos usuais, ou fora da caixa sanitária ($\chi^2=7,83$; $p=0,00512$); dificuldade em cobrir as fezes ($\chi^2=8,47$; $p=0,00359$) e redução no apetite ($\chi^2=7,83$; $p=0,00512$). Uma vez que todos esses

parâmetros são considerados como possíveis manifestações clínicas de DADF, é de se supor que os gatos geriátricos incluídos no estudo possivelmente já apresentavam sinais compatíveis com DADF, mesmo que em diferentes níveis de gravidade. Dentre as alterações de comportamento relatadas pelos tutores, as que ocorreram em mais de 50% dos gatos idosos ou geriátricos, foram: i) a permanência de mais tempo descansando e ii) o menor interesse por brincadeiras. Além disso, mais de 50% dos animais tiveram alterações no peso, tanto para mais quanto para menos. As outras mudanças no comportamento foram percebidas em menos da metade dos gatos incluídos na pesquisa, sendo que algumas delas como a diminuição na frequência em que o animal ronronava e a claudicação ocorreram em menos de 20% dos gatos.

CONCLUSÕES:

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Bennett D, Ariffin SM, Johnston P. Osteoarthritis in the cat 1. How common is it and how easy to recognise? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2012. Disponível em:> <http://jfm.sagepub.com/content/14/1/65>.

Enomoto M, Lascelles BDX, Gruen ME. Development of a checklist for the detection of degenerative joint disease-associated pain in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, p.1-11,2020. DOI: 10.1177/1098612X20907424 journals.sagepub.com/home/jfm

AGRADECIMENTOS:

À PROPPI / UFF pela concessão da bolsa discente;

Aos tutores dos gatos domésticos pela colaboração em participar da pesquisa.

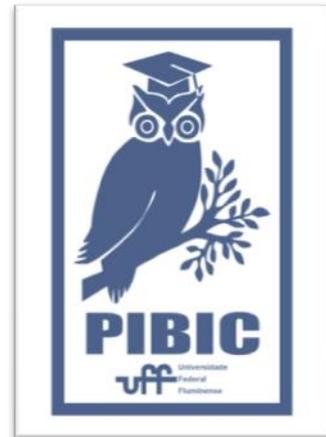


Imagem 1: Imagem PIBIC



**GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS AGRÁRIAS
POTENCIAL DE GERAÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DE
MACRÓFITAS DE UMA ESTAÇÃO WETLAND
JULIANA DE CASTRO S. DE SOUZA; GISELLE F. DE SOUZA;
CAISSA PERUCCI; FLÁVIO CASTRO DA SILVA; DIRLANE DE
FÁTIMA DO CARMO**

**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA E MEIO AMBIENTE/ESCOLA DE
ENGENHARIA/LABORATÓRIO DE MÁQUINAS E MECANIZAÇÃO AGRÍCOLA**

INTRODUÇÃO:

“Constructed Wetlands” (CWs), ou simplesmente Wetland, são sistemas projetados e construídos com substratos de vegetação emergentes e submergentes, que simulam alagados naturais, para uso e benefício do homem (KOHLER et. al., 2004). Os sistemas Wetlands com uso de macrófitas têm sido uma eficiente alternativa para o tratamento de águas residuárias, uma vez que são de reduzido custo e impacto social e ambiental, além de ser de fácil operação e manutenção (INAMORI et. al., 2007).

Estudos feitos sobre as macrófitas da família Salviniaceae e Cyperaceae mostram sua eficácia no tratamento de águas residuárias (GONZALEZ et. al., 2015; OUTRIDGE; HUTCHINSON, 1990; OLGUÍN et. al., 2003; MBEMBA et. al., 2019; JESUS et. al., 2009; LIMA et. al., 2015).

Por esse motivo, foram selecionadas, para este estudo, três macrófitas das famílias citadas acima: *Cyperus papyrus*, *Cyperus giganteus*

Vahl e *Salvinia auriculata Aubl.* Essas três espécies removem nutrientes e matéria orgânica das águas para seu desenvolvimento (NGUYEN, 2000; MITSCH et. al. 2000), além de possuírem alta capacidade de acumular em seus tecidos metais pesados como arsênio, cádmio, cromo III, níquel, alumínio, etc., sendo utilizadas como bioindicadoras e/ou fitorremediadoras destes (ALMEIDA et. al., 2007; WOLFF et. al., 2009; OLIVEIRA, 2012; OLIVEIRA et. al., 2015).

O uso de macrófitas nos sistemas wetlands para o tratamento de água residuária produz uma grande quantidade de biomassa (BIUDES; CAMARGO, 2007), sendo preciso podar constantemente para não prejudicar a eficácia do tratamento. O uso de resíduo proveniente dessa poda possui caráter promissor para a produção de biodiesel, pois além de explorar alternativas distintas para obter combustíveis renováveis, promove um destino adequado para esse material. Ademais, a maior parte do biodiesel produzido hoje advém de produtos alimentícios como soja e girassol. Com isso, seria uma forma de diminuição do uso destes e

reaproveitamento do material descartado da poda excessiva e necessária nas estações de tratamento.

No entanto, pesquisas sobre essas plantas, bem como análises do perfil lipídico e de ácidos graxos, ainda são escassas. Ressalta-se, portanto, a necessidade de estudo das mesmas, para que sejam desenvolvidas técnicas para o melhor aproveitamento das podas de macrófitas de wetlands em sistemas de tratamento de esgoto e, também, proporcionar destinação final adequada.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Para a extração do óleo das macrófitas, foi utilizada a metodologia de maceração a frio e foram testados dois solventes (metanol e hexano) a fim de saber qual seria o mais eficiente. Nessa metodologia, o solvente deve ser renovado a cada três dias (até o esgotamento vegetal) e, para isso, a amostra deve ser filtrada. A parte líquida (solvente + extrato) obtida deve ser concentrada sobre pressão reduzida em rotaevaporador para separação. O extrato com óleo obtido deve ser armazenado em novo frasco e quantificado. O solvente recuperado deve ser armazenado também em novo frasco, para que no final seja quantificado o total de solvente utilizado. Mas algumas dificuldades foram encontradas. A garrafa âmbar para abrigo de luz usada na extração tem diâmetro pequeno e para retirar a amostra para a etapa de filtragem, um pouco de material foi perdido, pois não foi possível retirá-lo completamente do recipiente. Outra

dificuldade encontrada foi após a separação no rotaevaporador. O extrato concentrado obtido apresentou alta viscosidade, sendo quase impossível retirá-lo do frasco. Com essas adversidades, não foi possível dar continuidade nas análises dessas amostras, pois muito material foi perdido, comprometendo a qualidade da pesquisa.

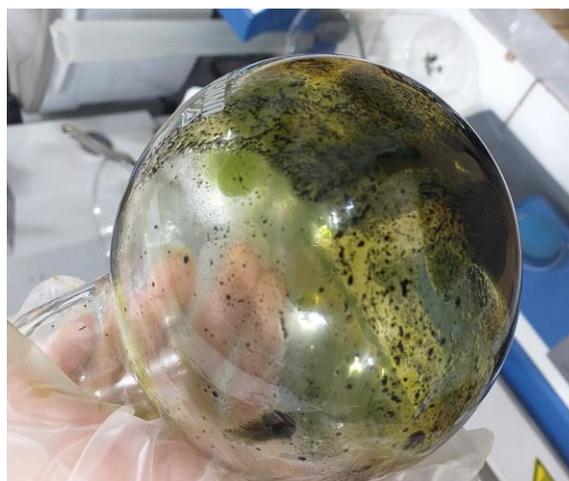


Fig. 01. Extrato com alta viscosidade obtido

Possíveis soluções foram estudadas. A questão da perda da planta por conta do tamanho da abertura da garrafa poderia ser resolvida quantificando toda a perda, mas ainda assim não seria a melhor solução. Outra opção seria utilizar um béquer e cobri-lo com placa petri (para não evaporar o solvente) e papel alumínio (para abrigo de luz). Com respeito à viscosidade do extrato, a solução encontrada seria adicionar um pouco de solvente para “lavar” o balão, retirando o extrato. Como o extrato obtido deve ser separado e quantificado, essa adição de solvente não afetaria no resultado das análises. O béquer deveria ser armazenado em uma capela, coberto com papel alumínio, onde

poderia ser feito alguns furos para evaporar o solvente.

CONCLUSÕES:

Após as primeiras análises, ficou evidente que a metodologia utilizada anteriormente resultou em extração de óleos essenciais, mas não o “óleo bruto” das espécies. Portanto, a maceração a frio em repouso por 72 horas demonstra ser o método mais eficiente para a extração dos óleos.

Mas apesar de mais eficiente para este tipo de extração, onde se objetiva um método fácil e que seja capaz de extrair o óleo bruto, essa metodologia apresenta certos entraves para o extrato em estudo em virtude de sua viscosidade. Provável que funcione bem para extratos que apresentem menor viscosidade, mas neste projeto foi preciso encontrar soluções para essa questão.

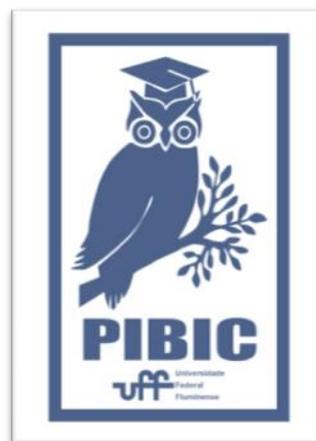
Em virtude da pandemia, as soluções encontradas para resolução dos entraves supracitados não foram testadas, não sendo possível chegar a resultados finais conclusivos.

AGRADECIMENTOS:

Gostaria de agradecer ao CNPq, pois sem o fomento essa pesquisa não seria possível.

Agradeço aos meus orientadores Flávio Castro e Dirlane do Carmo pela dedicação e contribuições feitas à pesquisa.

Sou grato à Universidade pública pelos incentivos à iniciação à pesquisa e seu comprometimento com o ensino de qualidade.





CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PESQUISA DE PARVOVÍRUS EM CANÍDEOS E FELÍDEOS SELVAGENS DO PARQUE NACIONAL DE ITATIAIA

JULIA ALMEIDA QUEIROZ DE FREITAS¹, LAÍS VERDAN DIB²,
ALYNNE DA SILVA BARBOSA², RITA DE CÁSSIA NASSER CUBEL

GARCIA¹

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA, INSTITUTO BIOMÉDICO, UFF. ¹LABORATÓRIO DE GASTRENTERITES VIRAIS E PARVOVÍRUS, ²LABORATÓRIO DE PARASITOLOGIA.

INTRODUÇÃO:

Os parvovírus patogênicos de animais (gênero *Protoparvovirus*, família **Parvoviridae**) são pequenos vírus contendo genoma DNA de fita simples, mas que apresentam taxas de mutação de genes semelhantes aos vírus com genoma RNA, e tal fato é responsável pelo aparecimento de novas variantes. O Parvovírus Canino (CPV) é considerado uma variante do parvovírus felino (FPV) que adquiriu a capacidade de replicação em cães após a passagem em raposas (*Vulpes vulpes*). A capacidade de replicar em uma gama de hospedeiros é uma propriedade chave dos parvovírus, o que reflete a diversidade de espécies (*Canidae*, *Felidae*, *Procyonidae*, *Mustelidae* e *Viverridae*) que estes vírus podem infectar naturalmente. Já existem relatos mostrando alta prevalência de anticorpos para CPV e FPV, em populações de canídeos e felídeos selvagens no Brasil. Além disso, as sequências nucleotídicas de parvovírus de um gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*) de zoológico e onças (*Panthera onca* e *Puma concolor*) de vida livre, revelaram alta similaridade com as sequências de parvovírus

de cão (*Canis familiaris*) e de gato (*Felis catus*). Tais achados ressaltam a importância de investigar as variantes de parvovírus que circulam em animais selvagens.

Portanto, este projeto teve como objetivo realizar a detecção dos parvovírus em amostras fecais de canídeos e felídeos selvagens do Parque Nacional de Itatiaia.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Um total de 177 amostras fecais coletadas do ambiente, nos anos de 2016 e 2017, no Parque Nacional de Itatiaia (PNI), foram analisadas. A identificação da espécie animal por tricológia revelou que 111 amostras eram de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), 43 de gato-do-mato-pequeno (*Leopardus guttulus*), 13 de cão doméstico (*Canis familiaris*), três de cachorro do mato (*Cerdocyon thous*), uma de raposa sul-americana (*Lycalopex sp*) e seis de outros carnívoros. Suspensões fecais a 20% em solução de Tris-Ca⁺⁺ 0,01M pH 7,2, foram preparadas a partir das amostras, e a seguir procedeu-se a extração do DNA viral com o *High Pure PCR Template Preparation kit* (Roche Life Science). A reação em cadeia pela

polimerase (PCR) foi realizada com diferentes iniciadores: 555F/555R (4003-4585) e CPV-F/CPVR (4104-4198) que amplificam fragmentos de 583pb e 93pb respectivamente, do gene que codifica a proteína de capsídeo viral. Como controle positivo foi utilizada a vacina Vanguard® Plus 10 (Zoetis) e como controles negativos: água *Nuclease-Free* (IDT®) e suspensão fecal canina PCR negativa.

Inicialmente, 77 amostras foram testadas na PCR com os iniciadores 555F/555R. Dado os resultados negativos, outras 100 amostras foram testadas utilizando o par de iniciador CPV-F/CPV-R na mistura de reação *PCR Supermix* (Invitrogen), e todas foram negativas. Para avaliar a presença de possíveis inibidores da PCR nas fezes coletadas do ambiente, foi realizada a contaminação experimental da amostra fecal 238 de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) com diluições seriadas da vacina Vanguard® Plus 10 (Zoetis) que contém $>10^{7.0}$ DICT₅₀/dose de CPV. A seguir, procedeu-se a extração do DNA de duas maneiras: (a) utilizando o *High Pure PCR Template Preparation kit* (Roche Life Science) conforme instruções do fabricante e (b) realizando um tratamento prévio da suspensão fecal com fenol/clorofórmio. Utilizando os iniciadores CPV-F/CPV-R foi possível detectar o *amplicon* de 93pb na amostra fecal contaminada com a vacina quando a PCR foi realizada com DNA extraído diluído 1/100 em H₂O *Nuclease-Free*. O tratamento prévio da suspensão fecal com fenol/clorofórmio permitiu a observação de uma banda mais nítida, sugerindo que tal tratamento foi capaz de remover possíveis inibidores da reação. Dessa forma, procedeu-se nova extração de DNA a partir de material fecal de 27

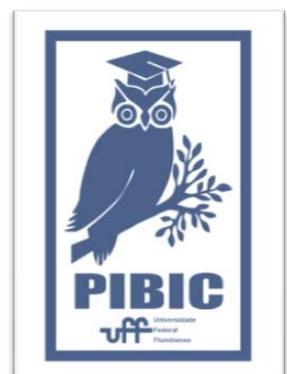
animais. Três diferentes concentrações do DNA extraído de cada amostra (a) DNA não diluído (bruto) e diluído a (b)1/10 e (c)1/100, foram testadas na PCR com os iniciadores CPV-F/CPV-R. O *amplicon* de 93pb foi detectado nestas amostras como também em amostras fecais sabidamente negativas para CPV. A fim de confirmar a especificidade destes resultados, realizou-se a Nested-PCR, com os pares de iniciadores 555F/555R (1ª reação) e CPV-For/CPV-Rev (2ª reação). A Nested-PCR confirmou a detecção dos amplicons na amostra fecal contaminada artificialmente. Entretanto, todas as outras suspensões fecais foram negativas.

CONCLUSÕES:

Não foi possível confirmar a circulação do Parvovirus de carnívoros nos canídeos e felídeos selvagens do Parque Nacional de Itatiaia (PNI). Esse resultado se deve ao fato de que, provavelmente, as amostras foram coletadas de animais sem sintomatologia, e que, ao contrário, dos animais diarreicos, não eliminam alta concentração de partículas virais nas fezes. Não é possível determinar quanto tempo estas amostras estavam no solo antes da coleta, sob efeito das variações climáticas. Além disso, estes animais já podem ter entrado em contato com o agente e não estarem em momento de eliminação de partículas virais nas fezes, já que estudos sorológicos demonstram a circulação do vírus nos animais selvagens em vários biomas do Brasil. Este monitoramento é importante pois estes vírus tem a capacidade de infectar diferentes espécies e de sofrer mutações, que podem alterar a virulência das variantes em circulação, e a capacidade das

vacinas atuais em conferir proteção contra estas novas variantes.

Agradecimentos: CNPq, Proppi-UFF





GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS AGRÁRIAS
TÍTULO DO PROJETO: UTILIZAÇÃO DO PLASMA RICO EM
PLAQUETAS (PRP) NA TERAPÊUTICA DA HEMORRAGIA
PULMONAR INDUZIDA PELO ESFORÇO (HPIE) EM CAVALOS
DE CORRIDA

AUTORES: CAMILA BERNARDES, NATÁLIA REBOUÇAS,
MARIA FERNANDA COSTA, STEPHANIA MIRANDA, MARCIA RAMOS, NAYRO ALENCAR
& DANIEL 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 afecções que acometem cavalos atletas, a ocorrência de alterações do trato respiratório é de grande relevância devido à demanda cardiopulmonar a qual esses animais são submetidos em suas rotinas de treinos e competições. A hemorragia pulmonar induzida pelo exercício (HPIE) é uma afecção respiratória importante e com potencial caráter crônico em cavalos de corrida e que, até o momento, não apresenta tratamento definitivo. Essa afecção pode levar ao afastamento do animal de suas atividades esportivas, à queda progressiva de desempenho e, conseqüentemente, reduzir seu tempo de carreira.

A HPIE é caracterizada por hipertensão pulmonar, edema dos locais onde há hematose, ruptura dos capilares pulmonares, hemorragia intra-alveolar e presença de sangue nas vias aéreas após a realização de exercício intenso. Atualmente no Brasil o controle da HPIE em

cavalos de corrida é realizado apenas com a furosemida, único fármaco autorizado pelo Código Nacional de Corridas.

Em equinos, o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) tem sido clinicamente utilizado para reparar diferentes lesões, pois é um hemoderivado com baixo custo, boa eficácia clínica e menor risco de rejeição. O PRP é um aglomerado plaquetário de fonte autógena e rico em fatores de crescimento que atuam como mediadores em muitos processos de reparo e regeneração tecidual, sendo importantes sinalizadores que promovem diferenciação, quimiotaxia e induzem a migração celular, além de favorecerem a síntese da matriz extracelular. Assim, o presente estudo avaliou os efeitos da instilação intrabronquial de PRP no escore endoscópico da HPIE em cavalos de corrida. Para tal, foram selecionados 37 cavalos (grupo controle) do Jockey Clube Brasileiro da cidade do Rio de Janeiro que eram HPIE-positivos em, pelo menos, dois exames endoscópicos

consecutivos. Desses, 23 receberam instilação intrabronquial de PRP autólogo (grupo tratado) e os demais 14 indivíduos receberam instilação intrabronquial de solução salina a 0,9% (grupo placebo) 72h após competirem. De 3 a 5 semanas após as instilações, os animais competiram novamente e uma nova avaliação endoscópica foi realizada. Os resultados das traqueoscopias foram analisados pelo teste U de Mann-Whitney com nível de significância de 95% ($p < 0,05$; Figura 1).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os procedimentos realizados foram bem tolerados por todos os cavalos, não sendo necessário sedar nenhum animal. O único efeito adverso observado foi tosse leve durante a instilação e nenhuma outra alteração clínica foi relatada durante ou após a administração intrabronquial do PRP ou da solução salina.

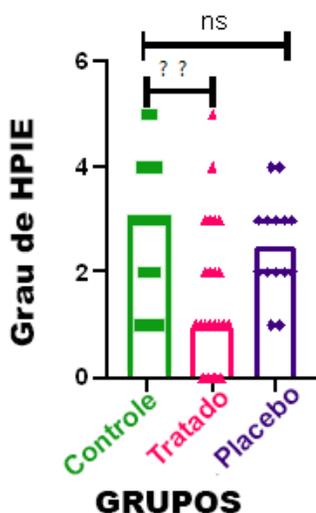


Figura 1 – Grau de HPIE dos cavalos no início do estudo (controle) e após receberem a instilação intrabronquial do plasma rico em plaquetas (PRP) ou da solução salina (placebo). $p < 0,01$; ns = não significativo.

O escore de sangramento no Grupo T (tratado) foi significativamente menor ($p = 0,002$) do que no Grupo C (controle), enquanto nenhuma diferença significativa foi encontrada entre o Grupo P (placebo) e o Grupo C ($p = 0,999$, Figura 1).

As plaquetas estão presentes no sangue de mamíferos e circulam continuamente nos vasos pulmonares, atuando efetivamente na homeostase e influenciando a inflamação local. O modo exato da ação do PRP intrabronquial na redução da HPIE ainda é desconhecido, mas parece que o mesmo está relacionado com as interações entre o tecido pulmonar lesionado e as propriedades anti-hemorrágicas das plaquetas, bem como a ação moduladora dos fatores de crescimento liberados pelas plaquetas.

Em longo prazo, a HPIE tem consequências que podem aumentar o grau de sangramento, como fragilidade capilar e danos aos tecidos causados pelos processos inflamatórios de sangramentos anteriores. Embora a furosemida seja o fármaco preconizado para mitigar os efeitos da HPIE, o mesmo nem sempre é eficaz em todos os animais. Nesse sentido, esses resultados demonstram que o PRP é um tratamento promissor, ao menos como uma ferramenta complementar ao uso da furosemida.

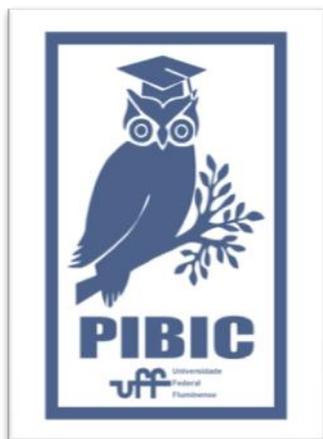
Outro resultado importante é que 46% dos animais foram submetidos a exame antidoping ao competirem na corrida pós-instilação. Todos esses apresentaram resultado negativo ao teste, demonstrando que o PRP não interfere no regulamento antidoping do turfe brasileiro.

CONCLUSÕES:

Foi possível concluir que a instilação intrabronquial de PRP foi eficaz na redução dos escores endoscópicos de HPIE em cavalos de corrida e não interferiu no regulamento antidoping das competições. Assim, esse bioproduto pode ser considerado uma alternativa promissora no controle de HPIE em cavalos atletas.

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

PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE FENOTÍPICA ÀS CEFALOSPORINAS EM CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* EPEC E STEC DE ORIGEM AVÍCOLA

**GISLLANY ALVES COSTA, HUGO PERALVA LOPES,
THOMAS SALLES DIAS, LEANDRO DOS SANTOS
MACHADO, DANIELE SOARES FIALHO, VIRGINIA LÉO DE ALMEIDA PEREIRA,
DAYSE LIMA DA COSTA.**

**DEPARTAMENTO DE SAÚDE COLETIVA VETERINÁRIA
E SAÚDE PÚBLICA- MSV/ FACULDADE DE
VETERINÁRIA**

INTRODUÇÃO

Escherichia coli constituem a microbiota intestinal de animais e humanos podendo ser patogênicas ou não. As aves podem ser portadoras de *E.coli* patogênicas para humanos, destacando-se os patótipos enteropatogênico (EPEC) e shigatoxigênico (STEC) (DOREGIRAE, 2016) que são considerados patógenos emergentes de origem alimentar e de importância significativa na saúde pública por provocarem diarreias de gravidade variada em humanos (KAWANO et al., 2012). As cefalosporinas são antimicrobianos de eleição para o tratamento de doenças causadas por bacilos Gram negativos (LOPES, 1990). São classificadas em gerações, de acordo com a ordem de desenvolvimento e espectro de ação, sendo as de 3ª geração as mais potentes contra os bacilos Gram-negativos. Os principais medicamentos desta geração são: Cefotaxima, Ceftazidima e Ceftriaxona, e ainda o Ceftiofur que é de uso exclusivo na medicina veterinária. Na avicultura, foi comum o uso do

Ceftiofur administrado via ovo ou pela via subcutânea no pinto, associado à vacina contra a Doença de Marek, visando o controle de infecções bacterianas precoces (VERRETTE et al 2019). As cefalosporinas possuem em comum o anel β -lactâmico em sua composição e o principal mecanismo de resistência bacteriana é a produção de enzimas β -lactamases que hidrolisam esse anel β -lactâmico, inibindo sua ação. O objetivo deste estudo foi verificar a resistência fenotípica às cefalosporinas de 3ª geração em cepas de *E. coli* dos patótipos EPEC e STEC isoladas de frangos vivos e de carcaças ao abate. Foram estudadas 76 cepas de *E. coli*, armazenadas no laboratório de Sanidade Avícola da UFF, sendo 52 do patótipo EPEC e 24 STEC. As cepas foram submetidas ao teste de difusão em disco (CLSI, 2014) e testadas aos seguintes antimicrobianos: ceftazidima (30 μ g), cefotaxima (30 μ g), ceftriaxona (30 μ g) e ceftiofur (10 μ g) (CEFAR®).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Do total de cepas de *E. coli* testadas, 24 (31,58%) foram resistentes e a maioria foi sensível às diferentes cefalosporinas. As cepas EPEC apresentaram a maior frequência de resistentes (27,63% - 21/76) quando comparadas às STEC (3,95%- 3/76). Entre as EPEC houve maior frequência de resistentes à Ceftriaxona (13,46% - 7/52) seguida da Cefotaxima (9,61% - 5/52) e do Ceftiofur (9,61% - 5/52). Entre STEC houve o mesmo percentual de resistência (4,16% - 1/24) à Cefotaxima, à Ceftazidima e Ceftriaxona. Nenhuma das cepas STEC foi resistente ao Ceftiofur (Tabela 1). A resistência aos antimicrobianos tem sido constantemente implicada com o seu uso na produção animal. No entanto, Verrette et al (2019) verificaram que mesmo diante da retirada do uso das cefalosporinas nas aves, elas continuam sendo reservatórios de *E. coli* resistentes a estes fármacos. Isso corrobora o que foi observado nesse trabalho, em que mesmo a maioria das cepas se mostrando sensíveis, ainda foram detectadas cepas resistentes.

ATM	Perfil de susceptibilidade		
	EPEC (n=52)		
	S	I	R
CTX	86,54% (45/52)	3,85% (2/52)	9,61% (5/52)
CAZ	86,54% (45/52)	5,77% (3/52)	7,69% (4/53)
CRO	86,54% (45/52)	0% (0)	13,46% (7/52)
CTF	82,69% (43/52)	7,69 % (4/52)	9,61% (5/52)
STEC (n=24)			
	S	I	R
CTX	95,83% (23/24)	0% (0)	4,17% (1/24)
CAZ	95,83% (23/24)	0% (0)	4,17% (1/24)
CRO	95,83% (23/24)	0% (0)	4,16% (1/24)
CTF	95,83% (23/24)	4,17% (1/24)	0% (0)

CONCLUSÕES

Frangos vivos e carcaças podem se constituir em reservatórios de EPEC e STEC resistentes à cefalosporinas. Como estes antimicrobianos são indicados para o tratamento de doenças causadas por bactérias Gram negativas, a associação da resistência com cepas patogênicas é preocupante pelo risco de insucessos nos tratamento com estes fármacos.

AGRADECIMENTOS

CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement. CLSI document m100-s24. Wayne, pa: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

DOREGIRAE, et al. Isolation of atypical Enteropathogenic and Shiga Toxin encoding *Escherichia coli* strains from poultry in Tehran, Iran. Gastroenterol Hepatol Bed Bench,9(1):53-57, 2016.

KAWANO, et al. STX Genotype and molecular epidemiological analyses of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7/H- in human and cattle isolates. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis, 31(2):119–127, 2012.

LOPES, H.V. Cefalosporinas de terceira geração: propriedades, limitações e indicações terapêuticas. Arq. Med. ABC, 13(1-2):30-32, 1990.

VERRETTE et al. Effect of Cessation of Ceftiofur and Substitution with Lincomycin-Spectinomycin on Extended-Spectrum- β -Lactamase/AmpC Genes and Multidrug Resistance in *Escherichia coli* from a Canadian Broiler Production Pyramid. Appl. Environ. Microbiol. 85(13):1-12, 2019.

Tabela 1. Perfil de susceptibilidade às cefalosporinas em cepas de *Escherichia coli* patótipos EPEC E STEC, isoladas de frangos e carcaças.

S: sensível, I: Intermediário, R: Resistente, ATM= antimicrobianos, CTX = cefotaxima, CAZ = ceftazidima, CRO = ceftriaxona, CTF = ceftiofur



CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ESTUDO FILOGENÉTICO DE CEPAS DE *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM* ISOLADAS DE POEDEIRAS COMERCIAIS

LYA DUARTE SANTANA, MARIANE MELONI DA SILVA, ROSIANE LIMA SILVA, CÁTIA CARDOSO DA SILVA, THOMAS SALLES DIAS, LEANDRO DOS SANTOS MACHADO, DAYSE LIMA DA COSTA ABREU, NATHALIE COSTA DA CUNHA, ELMIRO ROSENDO NASCIMENTO, VIRGINIA LÉO DE ALMEIDA PEREIRA

MSV/FACULDADE DE VETERINÁRIA¹

INTRODUÇÃO:

A micoplasmose destaca-se como uma das doenças 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 (BRASIL, 2001). *Mycoplasma gallisepticum* (MG) é a principal espécie de micoplasma que acomete as aves e está presente nos plantéis brasileiros de poedeiras comerciais (ARMOUR, 2020; SILVA et al., 2020). O diagnóstico pode ser realizado pelo isolamento e/ou por PCR (NASCIMENTO 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 tratamento na avicultura se faz pelo uso de antimicrobianos e a prevenção em galinhas

inclui a vacinação com vacinas vivas atenuadas que tem sido recomendada em poedeiras comerciais (NASCIMENTO et al., 2020). O objetivo deste estudo foi avaliar filogeneticamente cepas de MG circulantes em poedeiras comerciais em Bastos, SP, Brasil. Foram coletadas 140 amostras de traqueia, em seis granjas de postura comercial (A, B, C, D, E, e F) para detecção e caracterização de MG por PCR. Nas granjas A a E, as amostras foram obtidas a partir de 10 aves de 2 lotes e na granja F, de 4 lotes. Duas amostras positivas para MG de cada lote foram amplificadas novamente para a obtenção de produtos maiores (UPHOFF e DREXLER, 2002), enviados à Plataforma de Sequenciamento subunidade RPT01A, do Instituto Oswaldo Cruz para o sequenciamento. As sequências dos genes foram trimadas e os contigs montados com o software BioEdit® (version 7.0.5; downloaded from <http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>). A similaridade com outras espécies da classe

Mollicutes foi determinada no BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) e a história evolutiva foi inferida pelo uso do método da máxima verossimilhança e o modelo Kimura de dois parâmetros. As análises evolutivas foram geradas usando-se o software Mega X, versão 6.06 (TAMURA et al., 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Das 140 amostras analisadas à PCR, 16,4% (23/140) foram positivas para MG. Os resultados à PCR para detecção de MG foram: na granja A, 10% (2/20) das aves, positivas; na granja C, 5% (1/20) positivas; na granja D, 35% (7/20) positivas; e na granja E, 65% (13/20) das aves foram positivas. Nas granjas B e F, nenhuma das amostras foi positiva para MG. Usando sequências da região da lipoproteína de MG, foi possível observar que as cepas 811, da granja D, 812 e 813, da granja E, foram correlatas pela análise ao BLAST e apresentaram uma proximidade genética superior a 97,42%, o que fez com que permanecessem no mesmo cluster. Já as cepas 808 e 810, das granjas C e D, apresentaram maior divergência entre si e entre as amostras já citadas, com correlação de 94,04%, pertencendo a outro cluster. As cepas 808, 810, 811, 812 e 813 foram distintas das cepas vacinais ts-11,6/85 e F quando avaliadas pela árvore filogenética (Fig. 1).

CONCLUSÕES:

Foi possível observar a circulação de MG sem similaridade com as cepas vacinais F, TS-11 e 6/85, o que pode sugerir que cepas selvagens

ainda circulam nas granjas ou há circulação de outra cepa vacinal ainda não analisada nesse estudo. São necessárias mais análises biomoleculares e epidemiológicas para uma avaliação mais aprofundada da circulação dessas cepas ao longo do tempo e da sua distribuição geográfica.

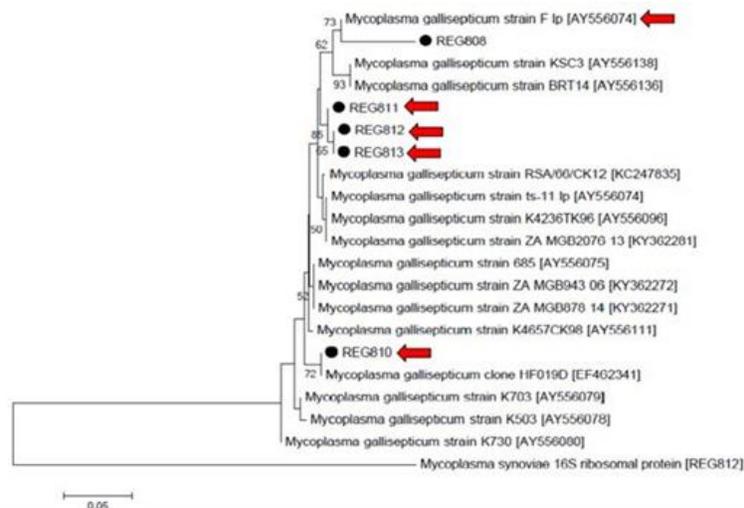


FIGURA 1. Árvore filogenética de *Mycoplasma gallisepticum* comparando cepas circulantes na região centro-oeste de São Paulo e cepas vacinais F, Ts 11 e 6/85, desenvolvida pelo método máxima verossimilhança e pelo modelo Kimura (1980) de dois parâmetros, com base nos fragmentos do gene da lipoproteína. Análises evolucionárias foram realizadas no software Mega X.

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.; PEREIRA, V.L.A.;
NASCIMENTO, M.G.F.; BARRETO, M.L. Avian
Mycoplasmosis Update. Braz. J. Poultry Sci.,
v.7, n.1, p.01-09, 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

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.et
al. MEGA6: molecular evolution. Genetics
analysis. Version 6.0. Mol. Bio. Evol., v.30,
p.2725-2729, 2013.

UPHOFF, C.C.; DREXLER, H.G. Comparative
PCR analysis for detection of mycoplasma
infections in continuous cell lines. In: Vitro
Cellular & Developmental Biology Animal. v.38,
p.79-85, 2002



CIÊNCIAS AGRÁRIAS

FABRICAÇÃO DE TIJOLOS DE SOLO-CIMENTO COM ADIÇÃO DE POLITEREFTALATO DE ETILENO (PET)

ALEXANDRE DINIZ VASSIMON¹; DAIANE CECCHIN²; TULANE RODRIGUES DA SILVA³; AFONSO RANGEL GARCEZ DE AZEVEDO⁴

ESCOLA DE ENGENHARIA/DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA

AGRÍCOLA E DO MEIO AMBIENTE/CAMPUS PRAIA VERMELHA

INTRODUÇÃO

A necessidade de diminuir os impactos ambientais gerados por resíduos sólidos no mundo faz com haja uma crescente busca pelo desenvolvimento de métodos de reaproveitamento envolvendo o conceito sustentável. O plástico é destaque entre os principais resíduos danosos ao meio ambiente, pois possui um tempo de degradação bastante alto e quando queimados liberam gases tóxicos para atmosfera (ZANIN; MANCINI, 2015).

No descarte desse tipo de matéria-prima encontram-se as garrafas feitas de politereftalato de etileno, e que, segundo ABIPET (2019) mesmo com o crescimento da taxa de recuperação desse tipo de plástico no país aumentado nos últimos anos, grande parte dessas embalagens acaba sendo destinadas ao sistema de aterros, os quais não possuem controle de destinação adequada para esse tipo de resíduo. Utilizar material reciclável é uma alternativa para reduzir o impacto ambiental (WIEBECK; HARADA, 2005). Com isso, é

possível afirmar a utilização de PET reciclado na construção civil (PIETROBELLI, 2010).

O politereftalato de etileno (PET) é um poliéster e um polímero termoplástico, o qual é melhor e mais resistente plástico para fabricação de garrafas, frascos e embalagens para refrigerantes, águas, sucos, óleos comestíveis, medicamentos, cosméticos, produtos de higiene e limpeza, destilados, isotônicos, cervejas, entre outros. Proporciona alta resistência mecânica e química, suportando o contato com agentes agressivos. Possui excelente barreira para gases e odores. Por isso é capaz de conter os mais diversos produtos com total higiene e segurança para o produto e para o consumidor (ABIPET, 2019).

De acordo com Al-Jabri et al. (2016), a utilização de resíduos em materiais de construção tem como diretriz o desenvolvimento sustentável. Segundo Mendes et al. (2014) a incorporação de resíduos em blocos de solo-cimento mostra-se como alternativa sustentável, além do seu processo de produção dispensar queima e diminuir a emissão de gases do efeito estufa.

Dessa forma, entende-se que a utilização de PET na produção de blocos de solo-cimento possa representar uma alternativa tecnicamente eficaz ao melhorar suas propriedades mecânicas e, conseqüentemente, colaborar com a diminuição de impactos ambientais.

Diante disso, objetiva-se com o presente trabalho analisar o comportamento das propriedades mecânicas de blocos de solo-cimento fabricados com adição de resíduo de PET em diferentes proporções.

MATERIAL E MÉTODOS

Fase 1

Inicialmente foi realizado um vasto referencial bibliográfico acerca da temática.

Fase 2

Após foi iniciado a segunda parte, com a obtenção dos materiais a serem utilizados: resíduo de PET triturado e solo. O resíduo de PET (Figura 1) foi obtido por meio de doação de uma empresa.



Fig. 01. Resíduo de PET triturado

O solo foi coletado na cidade de Volta Redonda, no estado do Rio de Janeiro, em área específica de terraplanagem com intuito de se obter melhor qualidade do material. Foram verificados três tipos de solos oriundos de processos de sondagens distintos, tendo em vista a necessidade da escolha do solo com melhor composição para a produção dos blocos.

A escolha da melhor amostra de solo foi baseada no teor de argila de solos ideais para confecção de blocos solo-cimento, sendo esse teor entre 50% e 70%. A amostra de solo escolhida representa um teor de areia de 68,38% (solo arenoso), demonstrada na Figura 2.



Fig. 02. Amostra de solo coletada

Fase 3

Nessa fase seriam realizadas as etapas de caracterização físico-química da amostra de solo e caracterização do resíduo de PET a ser incorporado nos blocos para realização da produção dos mesmos junto aos seus respectivos testes tecnológicos físicos e mecânicos, além da realização dos relatórios contendo os resultados a serem obtidos no

estudo. Porém a caracterização do resíduo, fabricação dos blocos e testes tecnológicos (compressão simples e absorção de água, nas idades de 7, 14 e 28 dias de idade dos blocos, seguindo as exigências da NBR 10836 (ABNT, 2013)). não puderam ser executados, uma vez que os laboratórios estavam fechados devido à pandemia.

Os teores de resíduo de PET que serão adicionados aos blocos são: 0% (testemunha) 10%, 20% e 30% em substituição parcial de solo correspondente a massa total do bloco.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a revisão bibliográfica realizada foi possível observar que a utilização de resíduo de politereftalato de etileno (PET) como agregado em blocos de solo-cimento representa uma alternativa sustentável, porém ainda há a necessidade de encontrar o teor de incremento ótimo para a produção de blocos de solo-cimento que vão resultar em blocos de maior qualidade.

Em virtude da pandemia, a etapa de produção dos blocos não foi realizada, bem como seus testes tecnológicos e demais atividades previstas para o estudo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Federal Fluminense pelos incentivos a iniciação científica a pesquisa e seu comprometimento com o ensino de qualidade, incentivando pesquisas que permitem o desenvolvimento não só do aluno, como de todo o meio acadêmico.



CIÊNCIAS AGRÁRIAS

INVESTIGAÇÃO E TIPIFICAÇÃO DE HEMOLISINAS DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADAS DE ALIMENTOS E ANIMAIS

JULIANA ALVES DA SILVA; MARIA THERESA XAVIER DOS SANTOS; GILLIAN FERREIRA DOS SANTOS ROCHA; AMANDA CAROLINE SILVA PEREIRA; 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* Diarreiogênica ou InPEC, *E. coli* Patogênica Intestinal) e extra intestinal (*E.coli* Patogênica Extraintestinal – ExPEC).

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 são citotoxinas que provocam lise celular dentre as quais de hemácias, por isso podem contribuir 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 patótipos de *E.coli* é melhor compreendida em relação à α -hemolisina e a enterohemolisina plasmidial. Além disso, a ocorrência destas hemolisinas nos diferentes patótipos, bem como dos subtipos relatados de enterohemolisina ainda não é bem descrita.

O presente trabalho teve como finalidade avaliar a ocorrência a expressão dos diferentes tipos de hemolisina através do seu padrão de hemólise, por meio de ensaios moleculares e fenotípicos. Tais ensaios estão sendo realizados com os conjuntos de cepas 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 patótipos e cepas

comensais bem como a relação genética entre elas.

METODOLOGIA

Foram testadas 123 cepas de *Escherichia coli* isoladas oriundas da coleção do Laboratório de Enteropatógenos, Microbiologia de Alimentos e Veterinária – LEMA, destas 9 amostras com perfil de virulência extraintestinal (ExPEC) de origem canina e humana, 23 isolados de *E. coli* enterohemorrágica (EHEC/STEC) isoladas de bovinos e 91 cepas ExPEC oriundas de aves.

A pureza e identificação bioquímica das cepas foi confirmada previamente a todos os ensaios. 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 imprescindível o 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

Considerando o grupo de amostras ExPEC provenientes de humanos e cães 22,2% apresentaram perfil α-hemolítico e 33,3% enterohemolítico e 44,5% não apresentaram hemólise.

No grupo de amostras ExPEC de aves apenas 1,1% demonstrou atividade α-hemolítico enquanto 53,8% se mostraram enterohemolíticos e 45,1% não apresentaram atividade hemolítica.

Já no conjunto de EHEC/STEC de bovinos 17,4% apresentaram atividade hemolítica em 3 horas de incubação, e 82,6% não exibiram atividade hemolítica, de modo que não foi detectada atividade enterohemolítica entres as *E. coli* enterohemorrágicas testadas.

A produção de hemólise no total de cepas estudadas, evidenciou fenotipicamente que 42,3% das cepas testadas apresentaram perfil enterohemolítico, exibindo halo após 18-24 horas, enquanto 5,7% expressaram atividade compatível com o perfil α-hemolítico. As cepas remanescentes (52,0%), não apresentaram atividade hemolítica nos testes realizados.

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

em várias cepas também como era esperado, pois a sua ocorrência parece ser ampla em *E. coli*.

CONCLUSÃO

A ocorrência de atividade hemolítica em *E.coli* associada ao perfil enterohemolítico se mostrou mais frequente em cepas extraintestinais isoladas de aves, enquanto em cepas enterohemorrágicas não foi detectado tal padrão de hemólise se tornando um fator adicional a se levar em consideração, necessitando de testes adicionais e dos ensaios moleculares para um melhor entendimento, podendo ser alcançado no retorno das atividades presenciais.



GRANDE ÁREA DO CONHECIMENTO: CIÊNCIAS AGRÁRIAS

TÍTULO DO PROJETO: ESTUDO DA MICOPLASMOSE E LENTIVIROSES EM CAPRINOS E OVINOS

AUTORES: VIGNOLI, J.A.¹; DIAS, T.S.²; BALARO, M.F.A.²; MACHADO, L.S.²; PEREIRA, V.L.A.²; CUNHA, N.C.²; NASCIMENTO, E.R.²

¹UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE ²DEPARTAMENTO DE SAÚDE COLETIVA VETERINÁRIA E SAÚDE PÚBLICA (MSV)

DEPARTAMENTO/UNIDADE/LABORATÓRIO: DEPARTAMENTO DE SAÚDE COLETIVA VETERINÁRIA E SAÚDE PÚBLICA (MSV)/FACULDADE DE VETERINÁRIA/LABORATÓRIO DE EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR

INTRODUÇÃO:

As micoplasmoses e lentiviroses são enfermidades de grande importância na caprinovinocultura, visto que causam problemas articulares, respiratórios, mamários e oculares, levando à diminuição da produção, mortalidade e diminuição do bem-estar dos animais.

Dentre as doenças causadas por *Mycoplasma* spp. destaca-se a agalaxia contagiosa, que afeta caprinos e ovinos causando diversos sinais clínicos, como mastite, agalaxia e, eventualmente, abortos e pneumonia. As lentiviroses também são conhecidas como Artrite Encefalite Caprina (CAE), caracterizada por determinar problemas articulares e mastite em adultos e neurológicos em filhotes e, Maedi-Visna doença de acometimento pulmonar, principalmente. Embora CAE seja conhecida uma doença de caprinos e Maedi-Visna de ovinos, atualmente sabe-se que os vírus circulam em ambas as espécies. Considerando os prejuízos que causam ao produtor e também aos animais

de produção, ambas estão contidas no Plano Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos (PNSCO) e na lista de doenças fornecida pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE).

Logo, com o objetivo de verificar a circulação de *Mycoplasma* spp. e *Lentivirus* spp. em ovinos e caprinos de rebanhos dos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais, foram coletadas durante o período de agosto a novembro de 2019, amostras de 97 animais de seis propriedades com sistemas de criação variados, sendo A, B e C de criação de ovinos e D, E e F de caprinos, objetivando-se a detecção molecular pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para *Mycoplasma* spp. e para *Lentivirus* spp. em rebanhos caprinos e ovinos (QUADRO 1). Foram obtidos suabes nasais, reprodutor e ocular visando a detecção de microrganismos da Classe Mollicutes por PCR. Para o diagnóstico de *Lentivirus* spp., as amostras de sangue armazenadas em tubos com anticoagulante foram centrifugadas para obtenção da capa leucocitária e enviadas para a realização da Nested-PCR.

Quadro 1. Amostras sanguíneas de caprinos e

Propriedades	Caprinos	Ovinos
<i>A</i>	0	15
<i>B</i>	0	14
<i>C</i>	0	2
<i>D</i>	19	0
<i>E</i>	13	0
<i>F</i>	34	0
<i>Total</i>	66	31
	97	

ovinos coletadas de propriedades dos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais, no período de agosto a novembro de 2019.

A extração de DNA de sangue foi feita segundo Sambrook et al. (1989), com alterações no tempo de aquecimento para 3 horas e a concentração de proteinase K a 580µg/mL, enquanto para suabes foi realizada a extração térmica, adaptada de Buim et al. (2009), com alterações na quantidade de amostra controle para 200µl e de campo 500µl, centrifugação a 13500 rpm, as amostras foram lavadas com Tris-EDTA pH 8,3 ao invés de PBS (Phosphate Buffered Saline) pH 7.2, e além disso as amostras são acondicionadas em microtubos de 1,5 contendo meio Frey com glicerol e não são incubadas overnight a 37°C. Após a extração as amostras são ressuspensas em tampão Tris-EDTA pH 8,3 e armazenadas a -20°C.

As reações de PCR foram realizadas seguindo as condições mostradas nos quadros 2 e 3.

Quadro 2. Condições de incubação das

Estágio	Temperatura	Tempo	N° de ciclos
1	94°C	5 min	1
2	94°C	1 min	40
	55°C	1 min	
	72°C	2 min	
3	72°C	10 min	1
Hold temp	4°C	∞	

amostras para a PCR de *Mycoplasma* spp., adaptadas de Kuppeveld et al. (1992, 1994).

Quadro 3. Condições de incubação das amostras para a PCR de *Lentivirus* spp. para o 1° e 2° rounds, adaptadas de Barlough et al. (1994).

Estágio	Temperatura	Tempo	N° de ciclos
1	94°C	5 min	1
2	94°C	1 min	40
	56°C	1 min	
	72°C	45 s	
3	72°C	7 min	1
Hold temp	4°	∞	

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Em relação aos resultados obtidos na PCR para a Classe Mollicutes, 25,37% (17/67) foram diagnosticadas como positivas. Do total foram 11,77% (2/17) positivos da espécie caprina e 88,23% (15/17) da espécie ovina. Analisando a quantidade de animais positivos de acordo com o sistema de criação, observamos que houve 22,22% (2/9) de animais

positivos em propriedades com sistema de criação intensivo, 20% (3/15) no semi intensivo e 80% (12/15) no extensivo. A descrição de animais positivos por propriedade e sítio de coleta está na Tabela 1.

Quanto às Lentiviroses, 29,06% (25/86) das amostras foram positivas na PCR, sendo que dentre as positivas, 20% (5/25) eram ovinos e 80% (20/25) caprinos. Houve 35,07% (20/57) de animais positivos em propriedades com sistema de criação intensivo, 28,57% (4/14) no semi intensivo e 6,67% (1/15) no extensivo. A descrição de animais positivos por propriedade está na Tabela 2.

Tabela 1. Resultado de teste por PCR para diagnóstico de *Mycoplasma* spp. em animais de propriedades dos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais, no período de agosto a novembro de 2019.

Sítio de coleta	Ovinos n/N (%)			Caprinos n/N (%)
	A	B	C	D
Nasal	4/15 26,67%	0/13 0%	-	-
Trato reprodutivo	5/15 33,33%	1/13 7,70%	-	2/8 25%
Ocular	-	-	2/2 100%	0/1 0%
Nasal + reprodutivo	3/15 20%	-	-	-
Total de positivos por propriedade de	12/15 80%	1/13 69%	2/2 100%	2/9 22,22%

Tabela 2. Resultado de teste por PCR para diagnóstico de *Lentivírus* spp. em animais de propriedades dos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais, no período de agosto a novembro de 2019.

Propriedade	Ovinos n/N (%)	Caprinos n/N (%)
A	1/15 (6,67%)	-
B	4/14(28,57%)	-
C	-	-
D	-	8/10 (80,0%)
E	-	7/13 (53,85%)
F	-	5/34 (14,70%)

CONCLUSÕES:

Foi possível verificar uma alta prevalência de infecção por *Mycoplasma* spp. e *Lentivírus* de Pequenos Ruminantes nas propriedades de estudo. O diagnóstico molecular conseguiu evidenciar a presença de ambos os agentes etiológicos, sendo *Lentivirus* spp. mais frequente em sistemas de criação intensivos e *Mycoplasma* spp. mais frequente em sistema extensivo.

AGRADECIMENTOS:

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica.





Grande área do conhecimento: Ciências Agrárias

Título do Projeto: CORRELAÇÃO DOS PARÂMETROS DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE CORVINA (*Micropogonias furnieri*) E TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) INTEIRAS E REFRIGERADAS.

Autores: Bruno Soares Toledo; Loise Carolina de Santos Lima; Micheli da Silva Ferreira; Eliane Teixeira Mársico.

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

INTRODUÇÃO:

Considerando a importância do binômio tempo x temperatura para manutenção da qualidade de peixes, padronizou-se 3 temperaturas (0°, 5° e 15° C) e acompanhou-se por 12 dias as alterações físico-químicas e parâmetros sensoriais das espécies Corvina (espécie marinha) e Tilápia (espécie dulcícola) inteiras. A escolha das espécies encontra justificativa no valor comercial que representa cada uma. Os procedimentos analíticos eleitos são considerados de baixo custo e rápidos, de forma que pudessem ser utilizados pelas indústrias e entrepostos com garantia de resultados e consequente segurança na qualidade dos produtos ofertados ao consumidor. Objetivou-se avaliar a qualidade dos peixes em distintas temperaturas por 12 dias correlacionando os dados com as alterações que caracterizem perda de qualidade das brânquias, olhos e cavidade abdominal. Além disso, confrontar os resultados para as espécies com os padrões de qualidade descritos pela legislação vigente.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram obtidos 36 exemplares de tilápia de um produtor localizado em Cachoeiras de Macacu - RJ e igual número de corvina diretamente de um pescador, imediatamente após captura, no litoral de Maricá-RJ (n=72), armazenados em recipientes isotérmicos com gelo e transportados até a Faculdade, nas mesmas condições. As amostras foram divididas em 3 grupos com 12 exemplares cada.

Os métodos físico-químicos utilizados foram N-BVT (Bases voláteis totais) e TMA (Trimetilamina) pela técnica de Microdifusão em placas de Conway, NH₃ pela prova qualitativa de Nessler, realizados segundo metodologia descrita nos Métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolpho Lutz (BRASIL, 2005). A Histamina foi determinada conforme método cromatográfico descrito por Schutz et al. (1976). Análise do pH, realizada pelo método potenciométrico (AOAC 2016). Os valores de pH nas temperatura de 0° C (5,6- 6,1) e 5° C (5,45- 6,7), não alcançaram o limite legal. Em temperaturas de 15° C (5,69-7,35), o limite de 7,0 estipulado pela legislação foi alcançado no 10°

dia de armazenamento. Para as amostras de tilápia, o limite de 7,0 não foi alcançado em nenhuma das condições de armazenamento, sendo 0° C (6,05-6,37), 5° C (6,01-6,41) e 15° C (6,12-6,9). A variação do pH foi mais expressiva na espécie corvina sendo possível sugerir que o armazenamento sob refrigeração a 15° celsius, configura-se em maior ponto crítico, favorecendo a multiplicação de microrganismos responsáveis pela deterioração do pescado. Nos exemplares de tilápia, não observou variações expressivas. Com relação aos valores de bases voláteis totais, o armazenamento a 0° C foi efetivo para evitar a degradação das moléculas de OTMA, de nucleotídeos e aminoácidos (5,2 a 20,9 mgN/100g). Entretanto, a 5° C (7,4 a 35,9 mgN/100g) o limite preconizado pela legislação foi alcançado no 9° dia de armazenamento e a 15° C (7,35-55,6 mgN/100g) no 4° dia. Já para as amostras de tilápia, em nenhum ponto considerado as variações de temperatura, foi constatado valor acima de 30mgN/100g, fato que encontra explicação pelos baixos valores de OTMA nessa espécie.

As amostras de corvina armazenadas a 0° C apresentaram traços de NH₃ no 10° dia, a 5° C no 4° dia apresentaram traços e, a partir do 6° dia o resultado foi positivo. Em temperatura de 15° C a partir do 2° dia já foi observado resultado positivo. Já a Histamina não foi considerada efetiva para ambas as espécies. Com relação aos parâmetros sensoriais para as amostras de corvina estocadas a 0° C, sinais de perda de qualidade foram observados no 12° dia. A 5° C, as mesmas condições foram observadas a partir do 4° dia e a 15° C, a partir do 2° dia e, no 4° dia já foi consolidado a perda de qualidade total.

Para as amostras de tilápia, a 0° C, os sinais foram muito suaves, não sendo observado odor e tampouco alterações dignas de nota. Em temperatura de 5° C, no 9° dia foram observados sinais de perda de qualidade. Entretanto, a 15° C, a partir do 3° dia de estocagem, pronunciando-se a partir do 6° dia, quando se consolidou perda total de qualidade.

CONCLUSÕES:

Conclui-se que a temperatura de 0° C é a mais eficiente na garantia de qualidade do pescado, que os padrões descritos pela legislação para N-BVT é efetivo para a espécie marinha estudada e que os padrões foram ineficientes para a tilápia (espécie dulcícola).

AGRADECIMENTOS:

Gostaria de agradecer a UFF pela formação em Medicina Veterinária, a PROPI pela oportunidade do projeto, ao CNPq pelo apoio financeiro e as minhas Professoras, Orientadoras envolvidas neste trabalho pela experiência e conhecimento adquirido.

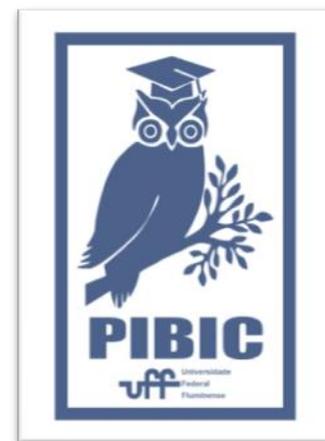


Imagem 1: Imagem PIBIC