

foi avaliar a presença dos principais microorganismos envolvidos na deterioração tipo *blown pack*, com ênfase nas famílias de clostrídio e enterobactéria. Foram analisadas 13 amostras de carnes, bovinas refrigeradas embaladas a vácuo e estufadas, provenientes de frigoríficos dos Estados de São Paulo, Mato Grosso do Sul e Goiás. Os cortes utilizados para as análises foram contrafilé, músculo, alcatra, picanha e filé de costela. As amostras apresentavam características de deterioração tipo *blown pack* dentro da data de validade, com períodos de armazenamento variando de 30 a 120 dias. Foram realizadas análises convencionais de cultivo visando ao isolamento de *Clostridium estertheticum* nas amostras de carne e identificação dos isolados obtidos pela técnica de PCR. Para o isolamento de enterobactérias, foram realizadas análises convencionais de microbiologia e para identificação dos microorganismos viáveis e cultiváveis nas amostras foi utilizado o kit API 20 E. As espécies de enterobactérias cultivadas e identificadas foram *Hafnia alvei*, *Serratia liquefaciens*, *Citrobacter braakii*, *Pantoea* sp. e *Yersinia enterocolitica*, sendo essa última potencialmente patogênica e de interesse em saúde pública. Observou-se que dentre as espécies de enterobactérias identificadas, a *H. alvei* foi predominante nas amostras avaliadas e não houve detecção de *C. estertheticum* nas amostras de carne.

*MCT/CNPq/Mapa n° 64/2008 - Ações de defesa agropecuária - Linha 2 - Projetos de Pesquisa Científica Tecnológica e Inovação.

¹Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, Av. Pádua Dias, 11, CEP 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

E-mail: annaari@hotmail.com

²Universidade Tiradentes, Aracajú, SE, Brasil.

³Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, SP, Brasil.

⁴Universidade de São Paulo, CENA, Laboratório de Biologia Celular e Molecular, Piracicaba, SP, Brasil.

Diagnóstico, caracterização molecular e estudos da patogenia de agentes infecciosos de importância econômica para a suinocultura brasileira*

Diagnostic, molecular characterization and pathogenesis studies of infectious agents of economical importance for the Brazilian swine production

Ciacchi-Zanella, J. R.¹; Schaefer, R.¹; Klein, C. S.¹; Silva, V.S.¹; Caron, L.¹; Piovezan, U.²

A agricultura e pecuária são setores essenciais para a economia do Brasil. Nesse cenário, os altos índices de produtividade e volume de exportações da suinocultura brasileira têm destaque mundial. Considerando-se os fatores de produção, as doenças infecciosas são as maiores ameaças à estabilidade das cadeias produtivas. Portanto, a disponibilização de ferramentas de diagnóstico alavancam pesquisas de etiologia, caracterização molecular, epidemiologia e controle de problemas sanitários em rebanhos suínos. O objetivo deste trabalho foi o de oferecer uma carteira de processos e metodologias de diagnóstico para agentes infecciosos de suínos importantes para o mercado interno e exportador. A eleição desses patógenos baseou-se na dificuldade, até então, de realizar uma investigação de agentes considerados exóticos no Brasil, como o vírus da síndrome reprodutiva e respiratória dos suínos (PRRSV) e o vírus da influenza suína (VIS). Outros agentes incluem o vírus da doença de Aujeszky, presente em rebanhos suínos domésticos de alguns estados brasileiros, porém de desconhecida epidemiologia e virulência em suínos silvestres. A

pneumonia enzootica causada por *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mh), amplamente disseminado na suinocultura brasileira e mundial, também requer métodos de diagnóstico indisponíveis em laboratórios oficiais, embora seja uma doença de certificação opcional para Granjas de Reprodutores Suídeos Certificadas (GRSC), segundo a IN 19, do Mapa. Para detecção de anticorpos e ácidos nucleicos desses agentes, em rebanhos comerciais ou centrais de inseminação, foram coletados soro sanguíneo, fluido oral, suabes nasais e vaginais ou prepuciais e fragmentos de órgãos suínos. Para detecção de anticorpos e agentes, as amostras foram testadas por ELISA e/ou HI (inibição da hemaglutinação) e RT-PCR (reação em cadeia da polimerase e transcriptase reversa) ou nested-PCR e, posteriormente, por imunohistoquímica e isolamento viral. Técnicas de PCR em tempo real foram implantadas para o VIS, para o vírus de influenza pandêmico (pH1N1), para o PRRSV e para o circovírus suíno tipo 2 (PCV2). Para caracterização desses agentes, como os vírus de influenza e Mh, o sequenciamento do genoma foi realizado. Os resultados deste estudo indicaram que para um diagnóstico seguro é necessário um processo ou conjunto de análises que complementem o diagnóstico laboratorial. A disponibilização dessas análises em laboratórios parceiros vai incrementar a vigilância sanitária, favorecendo uma maior competitividade da suinocultura brasileira frente a desafios sanitários atuais e potenciais.

*Edital CNPq/Mapa/SDA N° 064/2008 (processo n° 578102/2008-0).

¹Embrapa Suínos e Aves, BR 153, km110, CEP 89700-000, Distrito de Tamanduá, Concórdia, SC, Brasil.

E-mail: janice@cnpqa.embrapa.br

²Embrapa Pantanal, Corumbá, MS, Brasil.

Avaliação da eficácia do tratamento com tripsina em oócitos maturados *in vitro* e embriões fertilizados *in vitro* expostos a sorovares de *Herpes virus bovinus* tipo 1

Evaluation of the effectiveness of treatment with trypsin in in vitro mature oocytes and in vitro embryos exposed to type 1 Bovine herpes virus.

D'Angelo, M.; Pavão, D. L.; Alves, M. F.; Castro, V.; Catroxo, M. H. B.

Técnicas de reprodução assistida melhoram a qualidade e produtividade de rebanhos no mundo todo e têm sido cada vez mais utilizadas. Pesquisas analisando qualidade sanitária dos rebanhos, condições de oócitos e embriões produzidos *in vitro* e *in vivo* são realizadas mundialmente devido a contaminações que podem ocorrer durante as fases de produção e transferência de embriões. Nesse sentido, a técnica de produção e transferência de embriões torna-se segura desde que seguidas as normas definidas pelo manual da International Embryo Transfer Society (IETS), por meio de tratamento dos oócitos/embriões com tripsina e antibióticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia do tratamento com tripsina na eliminação e/ou remoção do Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV-1), estirpe Colorado, em embriões murinos. A detecção viral foi feita pela n-PCR e por efeito citopático em células de linhagem estabelecida de rim bovino (MDBK). Camundongos fêmeas Swiss, com idade entre seis e oito semanas, foram superovuladas e acasaladas com machos inteiros da mesma linhagem e idade. Após 24 horas, os zigotos (n = 262) foram divididos em três grupos: grupo controle submetido à lavagem sequencial (CLS), grupo exposto ao vírus (30 µL; título 106,5 vírus/mL) e submetido à lavagem sequencial (ELS) e grupo exposto ao vírus e submetido ao tratamento com tripsina (ETT). Os zigotos e as últimas gotas dos grupos foram separados para o teste