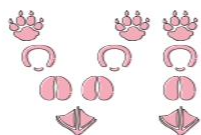


SAVUFSC
Semana Acadêmica de
Medicina Veterinária - UFSC



BIOTECNOLOGIA & INOVAÇÃO



SAVUFSC
Semana Acadêmica de
Medicina Veterinária - UFSC



DESTAQUE DA SESSÃO DESTAQUE SA VI SAVUFSC

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL E ANTIMETASTÁTICO *IN VITRO* DE DIFERENTES EXTRATO DE *Eugenia involucrata*.

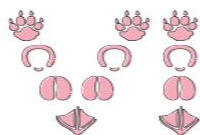
Eduarda Laís Munari^{1*}, Simone B. Fontoura¹, Júlio C. Dallorsoleta¹, Greicy M. Conterato², Cristian Soldi², Evelyn Winter²

¹ Acadêmicos de Medicina Veterinária, ²Docentes, Universidade Federal de Santa Catarina, ³Médica Veterinária, Curitiba - SC, Brasil

*Acadêmico Eduarda Laís Munari – munarieduarda0@gmail.com

Nos últimos anos, tem se buscado alternativas mais eficientes e menos tóxicas para a quimioterapia do câncer. Diante deste contexto, a utilização de extratos vegetais tem despertado o interesse de pesquisadores, uma vez que os produtos naturais estão disponíveis em abundância e oferecem possibilidades de encontrar substâncias de interesse terapêutico. Neste sentido buscou-se avaliar a atividade antitumoral dos extratos brutos da polpa, semente e folha da espécie *Eugenia involucrata* (cerejeira do mato) obtidos por maceração em solução hidroalcolica a 26°C. Realizou-se estudo de citotoxicidade *in vitro* dos extratos frente a linhagem de célula tumoral de pâncreas humano PANC-1. Após 72h de incubação com concentrações crescentes (0-1000 µg.mL⁻¹), os extratos que apresentaram mais de 50% de atividade foram analisados em células de linhagem não tumoral HUVEC (endotélio da veia umbilical humana) com o objetivo de obter o índice de seletividade (IS) dos extratos. A viabilidade celular foi avaliada através do ensaio de redução do reagente resazurina (AlamarBlue®) e calculou-se os valores de CC₅₀ (concentração citotóxica para 50% das células). Os resultados demonstraram que os extratos obtidos da semente e polpa não induziram citotoxicidade até a máxima concentração testada. Entretanto, o extrato das folhas de *E. involucrata* apresentou CC₅₀ de 596 µg.mL⁻¹ em células PANC-1 e superior a 1000 µg.mL⁻¹ em células HUVEC. Sendo assim, o IS deste extrato foi maior que 1,67 indicando maior seletividade do extrato para células tumorais. A partir da obtenção desses dados, o extrato das folhas passou por um processo de extração líquido-líquido utilizando o solvente hexano (EH), acetato de etila (EAE) e água (EAQ) com a finalidade de selecionar a fração mais ativa. Para o enriquecimento da pesquisa, os resultados dos extratos foram comparados com o quimioterápico gencitabina considerado padrão ouro no tratamento do câncer de pâncreas. Quando geradas as subfrações EAE, EAQ e EH, observou-se que a fração EAQ não induziu toxicidade e que a fração EAE demonstrou melhor IS por não reduzir a viabilidade de células HUVEC até a máxima concentração de 1000 µg.mL⁻¹. Nos testes envolvendo o quimioterápico gencitabina foi possível constatar que este fármaco foi citotóxico nas células não tumorais HUVEC (0,2 µM) e VERO (14 µM) ao contrário do observado em células tumorais PANC-1 sobre a qual nenhuma toxicidade foi observada até a máxima concentração testada (50 µM). O efeito antimetastático dos extratos EH e EAE foi avaliado através do ensaio de migração onde células confluentes foram tratadas com a CC₅₀ dos extratos ativos e analisadas nos tempos 0, 24 e 48h. O extrato EH e EAE inibiram 36% e 68%, respectivamente, a migração de células cancerígenas, indicando um possível efeito antimetastático. O potencial do extrato vegetal foi demonstrado *in vitro*, sugerindo um possível uso deste produto como um agente anticancerígeno. Mais estudos são necessários para verificar seu efeito *in vivo* e elucidar seu mecanismo de ação em níveis moleculares e bioquímicos.

Palavras-chave: atividade antitumoral, quimioterápicos, cerejeira, câncer, produtos naturais.



SAVUFSC
Semana Acadêmica de
Medicina Veterinária - UFSC



ALCALOIDE PIRROLIZIDÍNICO PROVENIENTE DO *Senecio brasiliensis* PREJUDICA O DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO INICIAL EM BOVINOS.

Gislaine dos Santos^{1*}, André Fontana Goetten²⁻³, Alceu Mezzalira², Valério Marques Portela⁴, Marcos Henrique Barreta³

¹ Acadêmicos de Medicina Veterinária, ²Universidade do Estado de Santa Catarina, ³Laboratório Fisiologia e Reprodução Animal, Universidade Federal de Santa Catarina Curitibanos - SC,

⁴Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil

*Acadêmico Gislaine dos Santos - gislainest0@gmail.com

O *Senecio brasiliensis* é uma planta altamente resistente e está difundida por toda a América do Sul, sendo uma das principais causas de morte entre bovinos na região sul do Brasil. Nesta região a maioria dos bovinos são criados em sistemas extensivos, o que facilita a ingestão da planta pelos animais. O *Senecio ssp* possui altas concentrações de alcaloides pirrolizidínicos que quando biotransformados em pirróis no fígado causam intoxicação, podendo levar a casos de subfertilidade e conseqüentemente perdas econômicas muito expressivas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da Senecifilina (alcaloide pirrolizidínico encontrado no *Senecio ssp*) sobre o desenvolvimento embrionário in vitro em bovinos. Para isso, ovários de bovinos foram obtidos em abatedouro e transportados ao laboratório em solução salina (0,9% NaCl; 30°C) contendo penicilina (100 UI/ml) e estreptomicina (50 µg/ml). Folículos com diâmetro entre 3 e 8 mm foram aspirados para obtenção dos Complexos Cumulus-oócito (CCOs). Cinco grupos de CCOs (n=30/grupo) foram maturados em meio TCM 199 suplementado com FSH, LH, piruvato de sódio, soro fetal bovino (SFB; 10%), penicilina e estreptomicina e foram mantidos em incubadora por 24 h (38,5°C; 5% CO₂). Para fertilização in vitro (FIV), os oócitos foram cultivados por 18 h (38,5°C; 5% CO₂) em meio TALP-Fert com espermatozoides previamente selecionados por um gradiente descontínuo de percoll (45 e 90%). Após a FIV as células do cumulus foram removidas por vortex. Os zigotos foram cultivados em meio SOF, suplementado com 5% de SFB, por 7 dias (5% CO₂; 5% O₂; 90% N₂; 38,5°C). A Senecifilina foi adicionada durante a FIV (0, 0,1, 1, 10, 100 ng/ml) e as taxas de clivagem e blastocisto foram avaliadas no D2 e D8 de cultivo, respectivamente. Foi observado que a adição de Senecifilina durante a FIV não alterou a taxa de clivagem (p>0,05). Porém, demonstramos que a taxa de desenvolvimento até o estágio de blastocisto foi reduzida em todos os grupos tratados com Senecifilina em comparação ao grupo controle (p>0,05). Novos estudos estão sendo realizados para avaliar se outros alcaloides pirrolizidínicos provenientes do *Senecio ssp* também prejudicam a capacidade de desenvolvimento embrionário e quais mecanismos celulares estão envolvidos neste processo. Dessa forma, conclui-se que a Senecifilina compromete o desenvolvimento embrionário inicial, sugerindo um potencial efeito negativo sobre a taxa de concepção do rebanho.

Palavras-chave: *Senecio ssp*, blastocisto, PIV, FIV, oócito.

DETECÇÃO DE CARBAMATO E ORGANOFOSFORADO EM AMOSTRAS TECIDUAIS DE ANIMAIS DOMÉSTICOS ATRAVÉS DA TÉCNICA DE CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

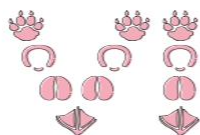
Caroline Nunes Rosa¹ *, Allanis Emanuelli Alves Carneiro¹, Fernanda Conte¹, Acauane Sehnem Lima¹,
Francieli Cordeiro Zimmermann^{2,2}, Evelyn Winter da Silva³

¹ Acadêmicos de Medicina Veterinária, ² Docente, Laboratório Patologia Veterinária, ³ Docente,
Laboratório Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos – SC, Brasil

* Acadêmica Caroline Nunes Rosa – caroljvs@gamil.com

A intoxicação intencional ou acidental através do uso de raticidas contendo as substâncias químicas carbamato e/ou organofosforado em animais domésticos tem aumentado de forma considerável. Essas substâncias são utilizadas nas culturas agrícolas, porém também são usados de forma ilegal com o objetivo de causar a morte de animais de companhia principalmente cães e gatos ou a eliminação roedores. A intoxicação ocorre majoritariamente pela por via oral e os sinais clínicos mais comuns são bradicardia, miose, tremores musculares, diarreia, ataxia e dispneia grave. O mecanismo de ação de ambos é a inibição da enzima acetilcolinesterase. Farmacologicamente, essas substâncias diferem apenas no tipo de ligação sendo que o carbamato se liga reversivelmente e o organofosforado irreversivelmente à enzima. A detecção destes raticidas nos tecidos animais pode ser realizada através do teste de cromatografia em camada delgada (CCD). A técnica consiste na separação de misturas por interação diferencial dos seus componentes entre uma fase estacionária (sólida) e uma fase móvel (líquida). As diferentes afinidades dos componentes da mistura pela fase móvel resultarão em diferentes velocidades de migração da amostra na fase estacionária, parâmetro que é denominado fator de retenção (Rf). Logo o objetivo desse trabalho foi analisar a presença ou ausência de carbamato e/ou organofosforado em amostras teciduais dos animais com suspeita de intoxicação por raticidas. A CCD foi aplicada neste trabalho por ser um teste qualitativo, econômico, rápido e eficiente para detecção das substâncias químicas. 16 animais com suspeita de intoxicação foram recebidos no período de 2015-2018 e necropsiados no Laboratório de Patologia Veterinária (LABOPAVE) da UFSC Campus Curitibanos. Amostras de rim, fígado, intestino, estômago e conteúdo estomacal foram coletadas e mantidas a -20°C. Das 16 amostras analisadas 12 apresentaram resultado positivo para Carbamato, Organofosforado ou ambos. Observou-se que o tecido que mais apresentou a presença dos raticidas foi o conteúdo estomacal (25%), por ser o local onde havia mais concentração do agente tóxico. A espécie animal mais acometida foi a canina (75%), fato que pode estar relacionado a sua baixa seletividade para com o alimento e que está de acordo com outros estudos toxicológicos semelhantes. O agente intoxicante carbamato foi encontrado em 50% dos casos, organofosforado em 33% e os dois agentes em 17% dos casos. Estes dados estão de acordo com outros estudos toxicológicos realizados no Brasil. Conclui-se que a CCD se mostrou uma técnica qualitativa com grande potencial para medicina veterinária forense. Os dados obtidos com esta metodologia podem ser úteis em inquéritos criminais relacionados à lei nº 9605/1998 que considera os maus tratos aos animais como crime ambiental.

Palavras-chave: intoxicações, carbamato, organofosforado, cromatografia em camada delgada.



EXTRAÇÃO DE DNA PARA DETECÇÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM ISOLADOS DE *Salmonella* spp.

Nayara Andresa Rossi^{1*}, Sheron Horstmann dos Santos¹, Jefferson Vaz Farias Weber do Nascimento¹, Ana Paula da Cunha¹, Álvaro Menin², Sonia Purin da Cruz²

¹ Acadêmicos de Medicina Veterinária, ² Docente, Laboratório de Diagnóstico Bacteriológico e Micológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos – SC, Brasil

*Acadêmica Nayara Andresa Rossi - nayandresarossi@hotmail.com.br

A resistência a antibióticos vem crescendo e se tornando um grande desafio para a Medicina Veterinária. Visando orientar o tratamento e controle das doenças infecciosas, este trabalho teve como objetivo analisar o DNA das cepas de bactérias do gênero *Salmonella* por meio da técnica de PCR, com a finalidade de investigar existência de genes de resistência a antibióticos. As amostras foram provenientes de 26 granjas de suínos situadas no Norte, Oeste e Sul de Santa Catarina. Para a extração do DNA foi realizado a raspagem de bactérias, a qual foi feita a partir de culturas estabelecidas em meio sólido, em Placas de Petri, transferindo-as para microtubos. O resultado da passagem das colônias para os microtubos foi satisfatório na maioria das amostras. Porém, algumas placas de Petri que foram cultivadas por mais tempo apresentaram o meio de cultura muito seco ou sem crescimento bacteriano, não foram utilizadas para a próxima etapa a realização da extração do DNA. Para a etapa da extração do DNA, o primeiro protocolo testado foi o método clorofórmio/ álcool isoamílico (CIA), que não gerou resultados satisfatórios. Não foi possível observar formação de um sobrenadante, sendo um indicativo de que a extração de DNA não ocorreu de maneira adequada. O segundo protocolo testado foi o método de termo-extração. Nele foi necessária a utilização de banho-maria em uma temperatura de 95°C durante 15 minutos. Após a extração centrifugou-se os tubos 20.000 xg por 15 minutos, e foi feita a transferência do DNA (sobrenadante) para um novo microtubo. Essas amostras foram armazenadas a -20°C. O DNA extraído foi enviado para um laboratório terceirizado onde será realizada a PCR. Os resultados do presente estudo dão suporte a análise da resistência a antibióticos no âmbito genômico.

Palavras-chave: PCR, saúde pública, saúde única, diagnóstico, doenças infecciosas.

Agradecimentos: Ao laboratório VERTÀ, pela disponibilização das amostras e dados, e a equipe dos Laboratórios de Microbiologia CED101 e CBS-01 da UFSC.



SAVUFSC
Semana Acadêmica de
Medicina Veterinária - UFSC



PLANO DE PREVENÇÃO E MONITORAMENTO DE FIBROSSARCOMA POR INJEÇÃO (FISS) EM FELINOS

Maria Helena Souza de Aguiar^{1*}, Laura Garbin Cappellaro¹, Caroline Nunes Rosa¹, Paloma Machado¹, Lorien Sander¹, Eduarda Mariana Mendes¹, Sandra Arenhart²;

¹ Discentes Medicina Veterinária; ² Docente, Laboratório de Diagnóstico Viroológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos - SC, Brasil

*Acadêmica Maria Helena Souza de Aguiar - helenaaguiar376@gmail.com

O fibrossarcoma em locais de injeção (FISS) é uma neoplasia maligna que tem seu desenvolvimento mais frequente em felinos. Sua etiopatogenia, ainda não é bem conhecida, porém acredita-se estar relacionada com uma resposta inflamatória crônica. Sabe-se que a utilização de vacinas e a aplicação de injeções subcutâneas podem levar ao desenvolvimento do FISS. Destas, as vacinas são mais frequentemente associadas ao FISS do que outras injeções. O FISS se apresenta na forma de uma massa subcutânea, podendo gerar frequentemente metástase para outros órgãos. O diagnóstico é simples e é realizado através de biópsia da massa tumoral. As terapias utilizadas para o tratamento do FISS são a radioterapia, a quimioterapia e a cirurgia. A combinação da radioterapia com a cirurgia traz mais benefícios do que apenas o uso da cirurgia, reduzindo o índice de reincidência. Ainda assim, muitas vezes não é possível remover todas as células tumorais, e tem-se ainda um índice de recidiva em torno de 30-70%. Na quimioterapia, a principal droga utilizada é a doxorubicina, porém estudos mostram baixa eficácia na regressão tumoral devido à grande quantidade de tecido necrótico, assim a droga não consegue atingir as células tumorais de forma eficaz. O prognóstico do FISS, portanto, é de reservado a ruim. O FISS normalmente é encontrado na região interescapular, pois este é um dos locais de eleição para aplicação e ao mesmo tempo, um dos locais de menor chance de cura, pois a cada recidiva do tumor, a quantidade de tecido para fechamento torna-se menor, impossibilitando a excisão com margens amplas. Diante da dificuldade de tratamento e da elevada taxa de letalidade, é importante que sejam tomadas medidas preventivas a fim de evitar o desenvolvimento do FISS, além da detecção precoce do tumor caso este ocorra. Desta forma, este trabalho teve como objetivo criar um novo modelo de carteira de vacinação para felinos. Nesta carteira, serão registrados, através de uma resenha, todas as vacinas recebidas pelo animal e os locais onde as mesmas foram aplicadas, sempre evitando repetições do mesmo local e a região interescapular. Os locais de aplicação preferenciais recomendados são nas regiões distais dos membros. Além disso, também constará nesta carteira, uma recomendação de retorno com data agendada para três meses após a vacinação, para monitoramento do local de aplicação e diagnóstico precoce do FISS. Assim, o desenvolvimento deste trabalho busca reduzir a ocorrência de FISS por causa vacinal em felinos, e também aumentar a detecção precoce, para uma maior chance de cura do animal.

Palavras-chave: felinos, vacinação, fibrossarcoma em locais de injeção, prevenção, monitoramento.

POTENCIAL DE INOCULAÇÃO DE MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO VEGETAL NA CULTURA DO MILHO COM ÊNFASE NA PRODUÇÃO DE SILAGEM

Heraldo Alex Kemer^{1*}, Júlio César Ariati¹, Rafael França Pereira¹, Renan Adamcheski¹, Vinicius Leite¹, Sonia Purin da Cruz²

¹Acadêmicos de Agronomia, ²Docente, Microbiologia, ³Docente, Laboratório de Diagnóstico Bacteriológico e Micológico, Universidade Federal de Santa Catarina Curitibanos-SC

*Acadêmico Heraldo Alex Kemer - heraldokemer@gmail.com

A produção de silagem no Brasil a partir do milho (*Zea mays*) é uma prática muito desenvolvida pelos produtores, principalmente na cadeia produtiva do leite. Além do grande volume de matéria seca produzido por tamanho de área, essa cultura apresenta também grande potencial nutritivo para alimentação dos animais. Além do acúmulo de reserva nos grãos, os nutrientes presentes na matéria verde das plantas, também são responsáveis pela qualidade da silagem. Nesse sentido, o teor de nitrogênio presente na parte aérea das plantas é muito importante, estando diretamente relacionado com as quantidades de proteína bruta no produto final. Contudo, o N é um fator limitante para a produção de milho, visto as grandes doses de aplicação recomendadas, e a baixa absorção natural pelo sistema radicular das plantas. Com isso, tem-se realizado cada vez mais aplicações de fertilizantes nitrogenados, influenciando diretamente no aumento dos custos de produção e também em problemas ambientais, pois grande parte do que é aplicado torna-se suscetível aos processos de perdas naturais. O presente trabalho, teve o objetivo de avaliar a eficiência do uso da prática de inoculação de microrganismos promotores de crescimento vegetal no milho. O experimento foi conduzido a campo, em uma propriedade rural localizada no município de Curitibanos, em um delineamento em blocos casualizados com 11 tratamentos e 6 repetições, sendo T1: testemunha 0% N, sem inoculação; T2: 75% N, sem inoculação; T3: 100% N, sem inoculação; T4: 75% N + Inoculante AZOTOTAL líquido; T5: 75% N + *P. fluorescens* líquido; T6: 75% N + Pré-bioproduto 1 + Protetor; T7: 75% N + Pré-bioproduto 2 + Protetor; T8: 75% N + Pré-bioproduto 3 + Protetor; T9: 75% N + Pré-bioproduto 4 + Protetor; T10: 75% N + Pré-bioproduto 5 + Protetor; T11: 75% N + Pré-bioproduto 6 + Protetor. Em R1, foram coletados a parte central referente a um terço da folha oposta à inserção da primeira espiga, de cinco plantas, escolhidas aleatoriamente em cada parcela, desconsiderando-se as bordaduras. As amostras foram submetidas ao processo de secagem em estufa com circulação de ar forçada a 65 °C. Após a secagem, o material foi triturado, seguindo para o processo de análise em Laboratório com base no método de Kjeldahl, para determinação dos teores de Nitrogênio, em cada tratamento. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância. Não houve efeitos significativos em relação ao uso dos tratamentos. Contudo, essa foi uma avaliação pontual, sendo que o uso de inoculação uma prática de baixo custo-benefício, que pode ser aplicado na cultura do milho visando o estímulo do crescimento e desenvolvimento das plantas e futuras avaliações devem ser conduzidas em outros estádios fenológicos da cultura.

Palavras-chave: Milho, Nitrogênio, Inoculação, Silagem, Alimentação.

Agradecimentos: Apoio financeiro cedido pela empresa Total Biotecnologia, e ao Sr. Paulo César França Pereira pela concessão da área para execução do experimento.

SEXAGEM EM CALOPSITA (*Nymphicus hollandicus*) UTILIZANDO PCR

Amanda Wernke Tenfen^{1*}, Álvaro Menin²

¹ Acadêmico de Medicina Veterinária, ²Docente, Laboratório de Diagnóstico Bacteriológico e Micológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos – SC, Brasil

*Acadêmico Amanda Wernke Tenfen - amanda.tenfen@gmail.com

As calopsitas (*Nymphicus hollandicus*), são aves originárias da Austrália, pertencem a Ordem Psitaciforme, família Cacatuide e subfamília Cacatuinae, é a menor espécie entre as cacatuas, com 30-32 cm de comprimento, e uma das espécies de psitacídeos mais populares como pet devido a sua beleza, docilidade e capacidade de aprendizado. Como não apresentam dimorfismo sexual, dificulta a formação de casais para reprodução e o manejo do tutor. Nestes casos, a sexagem pode ser realizada através da técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), apresentando diversas vantagens, principalmente por ser considerada uma técnica molecular sensível, rápida, com custo relativamente baixo e que permite distinguir machos e fêmeas em qualquer idade. Existe uma região no genoma das aves relacionada a transcrição de genes de desenvolvimento sexual, denominada CHD (chromo-helicase-DNA-binding). Essa região pode ser amplificada pelo método da PCR através da utilização de primers específicos, distinguindo claramente machos e fêmeas. Nas aves, as fêmeas apresentam os cromossomos sexuais heterogaméticos, ou seja, um cromossomo W e um Z, já os machos possuem dois cromossomos Z. O gene CHD-W localiza-se no cromossomo W, portanto somente nas fêmeas, e o gene CHD-Z é encontrado no cromossomo Z, logo, em ambos os sexos. A técnica pode ser realizada utilizando como matriz, penas ou sangue. Para coleta das penas, devem ser coletadas de 6 a 8 penas podendo ser da região do peito, as mesmas devem ser arrancadas, sendo indispensável a presença do bulbo, não devendo haver sangue no seu interior. Já a coleta de sangue pode ser realizada através do corte da unha, especialmente para aves de pequeno porte. Recomenda-se que o corte seja feito no sentido longitudinal da unha, uma vez que cortes no sentido transversal podem comprimir os vasos e resultar em um volume insuficiente de sangue. Ainda, pode-se realizar a venopunção nas veias jugulares (a direita é a mais calibrosa), basilícas ou alares e metatársicas. Para a realização deste trabalho foi realizada a coleta de sangue para sexagem de uma calopsita, alerquim, com idade de 1 ano e 3 meses. A amostra coletada em tudo com Heparina, foi submetida a extração de DNA genômico e submetidos a reação de PCR, utilizando iniciadores específicos para amplificação de uma região conservada do cromossomo Z e W, respectivamente. Em seguida, o amplicom foi submetido a eletroforese, corado com gelRed, onde foi observado uma banda correspondente ao cromossomo Z, identificando um macho.

Palavras-chave: *Nymphicus hollandicus*, biologia molecular, genômica, Medicina Veterinária, diagnóstico.