

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 nº 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 enzoótica 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 Nº 064/2008 (processo nº 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

de n-PCR e inoculados em células MDBK para observação de efeito citopático. Todos os grupos, com exceção do CLS, apresentaram resultados positivos para a n-PCR tanto para zigotos quanto para as últimas gotas. Houve a presença de efeito citopático em todos os grupos, exceto no grupo CLS demonstrando a viabilidade do vírus após os tratamentos. Esses resultados demonstraram que o tratamento com tripsina não foi eficaz na eliminação e/ou remoção do BoHV-1. A necessidade de estudos dessa natureza é de fundamental importância ao considerarmos o potencial risco da transmissão de patógenos emergentes e pouco controlados pelas biotécnicas da reprodução, visando, dessa forma, ao controle e à produção de embriões saudáveis.

*CNPq/Mapa: Edital 064 - 578398-2008/7.

Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil.
E-mail: dangelo@biologico.sp.gov.br

Colapso de colônias de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) no Brasil*

*Colony collapse disorder in Africanized honey bees *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) in Brazil*

Message, D.^{1**}; Guidugli-Lazzarini, K. R.^{1***}; Freitas, N. H. A.^{1****}; Simões, Z. L. P.²; de Jong, D.²; Silva, I. C.^{3*****}; Teixeira, É. W.¹

As abelhas *Apis mellifera* L. são responsáveis pela movimentação de 15 bilhões de dólares relacionados à produção agrícola, devido à ação polinizadora de cerca de 1,6 milhões de colmeias nos EUA. No Brasil, essa prática ainda é incipiente, no entanto na cultura da maçã no sul do Brasil são empregadas cerca de 60.000 colmeias para executar a polinização. Nas duas últimas décadas, um forte declínio desses polinizadores tem estimulado cientistas de todo mundo a buscarem os agentes causadores dessas perdas, porém, até o momento, os resultados não são conclusivos. Neste trabalho, foi apresentado um relato de perdas de colônias de abelhas que vem sendo observado no sudeste e sul do Brasil. O primeiro relato de colapso de colmeias, similar à CCD (Colony Collapse Disorder), descrito nos Estados Unidos desde o outono de 2006, foi observado pela primeira vez em duas colmeias na região de Altinópolis, SP, ocorrido entre duas revisões feitas em agosto de 2008 (com intervalo de 14 dias), deixando muito alimento (mel/pólen), poucas crias e abelhas adultas, presença da rainha, ausência de abelhas adultas mortas e de crias doentes. Em abril de 2010, observou-se entre duas coletas de abelhas forrageiras (com intervalo de três dias) em um apiário experimental com 20 colmeias no campus da USP de Ribeirão Preto, SP, a perda de duas colônias com sinais clínicos similares aos da CCD. Entre abril e julho, foram perdidas mais 13 colmeias, no entanto com alta incidência de “crias anômalas ou crias marrons” e morte de abelhas adultas, totalizando 70% de perdas. Entre janeiro e junho de 2011, observou-se o colapso de quatro das cinco colmeias restantes, dessa vez com níveis de infecção de *Nosema ceranae* até então não detectados, chegando a 40 milhões de esporos/abelha. Ao longo dos últimos anos, têm sido reportadas, por apicultores e por fiscais federais/estaduais, altas perdas de colônias nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Santa Catarina. Até o momento, análises feitas por PCR em abelhas forrageiras, coletadas de colmeias nas regiões afetadas, têm mostrado a presença dos vírus: IAPV, APV, DWV e BQCV, dos microsporídios *N. ceranae* e *N. apis*, e do ácaro *Varroa destructor*. Embora resultados conclusivos não estejam disponíveis, nos casos

de perdas similares à CCD, nossa hipótese é de abandono anormal da colônia em vez de desaparecimento das abelhas, causado por colapso comportamental que poderia ser resultante de sinergismo envolvendo os patógenos detectados, condições climáticas e possíveis resíduos em doses subletais de inseticidas, que são amplamente utilizados de forma legal e ilegal nas regiões com perdas de abelhas no Brasil.

*CNPq/ Mapa

**Bolsista DTI-1/CNPq (Proc. 578293/2008-0/CNPQ – Ed.064/2008, Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Depto. Entomologia/UFV

***Bolsista DTI-2/CNPq (Proc. 578293/2008-0/CNPQ – Ed.064/2008)

****Bolsista ITI/CNPq (Proc. 578293/2008-0/CNPQ – Ed.064/2008)

*****Programa de Pós-Graduação em Entomologia

¹Polo Regional do Vale do Paraíba, Laboratório de Sanidade Apícola, CP 7, CEP 12400-970, Pindamonhangaba, SP, Brasil.

E-mail: dejair.message@gmail.com

²Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Genética, Laboratório de Biologia e Desenvolvimento de Abelhas, Ribeirão Preto, SP, Brasil. ³Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

IDApi, um software para avaliação da apicultura*

IDApi, a software for evaluation of beekeeping

Tassinari, W.S.¹; Lorenzon, M.C.^{2**}; Koshiyama, A.S.¹; Soares Neto, J.³

Atualmente, as empresas públicas e privadas, ligadas à apicultura, procuram identificar os obstáculos do segmento apícola e, por vezes, utilizam censos e levantamentos para diagnósticos, preparo de planos e ações corretivas em torno dos índices de produção. Comumente, os diagnósticos da apicultura são apenas tratados pelos numerários dos fatores de produtividade, como a produção média anual por colmeia e a produção total de seus produtos, sem muitas vezes indicar os aspectos tecnológicos que conduzam à produtividade. Além disso, os levantamentos exigem recursos financeiro e humano substanciais, além de prazos extensivos. Este estudo formulou um índice, chamado de índice de desempenho apícola-IDApi, para auxiliar na avaliação da atual conjuntura da apicultura. Para sua formulação, foram trabalhados os dados extraídos de um levantamento apícola do Estado do Rio de Janeiro (2009). Foi preparado um banco de dados, a partir de questionários (266 variáveis) aplicados aos os apicultores, obtidos por meio de entrevistas dirigidas por técnicos treinados. O modelo estatístico do IDApi foi efetuado por análise exploratória, que criou os escores: 0 a 0,5, o IDApi é fraco; 0,51 a 0,75 é regular; e entre 0,76 a 1,0 é satisfatório. Sua formatação também foi preparada por web designer. O índice se apresenta em apenas um valor, de forma geral ou segmentada, que provém da análise de três principais temáticas da apicultura: instalação, povoamento de apiários e manejo & produção. Particulariza-se a aplicação do IDApi em um estudo de caso, a partir dos dados do levantamento apícola (2009), tomando-se como foco as perdas de colmeias, muitas devido à ocorrência de doenças. Os dados foram organizados em dois grupos: A, obtido de 27 municípios, que apresentavam altas perdas de colmeias por ano ($\geq 20\%$); B, composto por nove municípios, que cerceavam os do grupo A, e nesse caso as perdas são aceitáveis ($< 20\%$). Todas essas análises foram realizadas pelo pacote estatístico R. O IDApi geral foi: GrA IDApi 0.62 [0.60 ~ 0.64]; GrB 0.65 [0.63 ~ 0.68]; As médias são bem próximas (A = 0.75; B = 0.76), porém o GrA apresenta