

DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DOS PATÓGENOS BACTERIANOS PRESENTES NO PROCESSO DE PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES BOVINOS (PIVE)

Nilson Veloso Bezerra¹; Hilma Lúcia Tavares Dias¹; Otávio Mítio Ohashi¹; João Bosco da Costa Araújo²

¹Universidade Federal do Pará, Laboratório de Investigação e Diagnóstico de Enfermidades Animais - LIDEA, Núcleo de Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias - CCA, Rua Augusto Corrêa nº 1, Campus Universitário do Guamá, 66075-900, Belém-PA, Brasil, E-mail:

²Centro Nacional de Primatas, (CENP) -BR316, Km 7, Caixa Postal nº 44, CEP 67030-000, Ananindeua, PA-Brasil.

Introdução

A Produção *in vitro* de Embriões (PIVE) é uma biotecnologia de reprodução que se encontra em franco desenvolvimento, cuja grande preocupação neste momento é avaliar todos os fatores, infecciosos ou não, que possam influenciar na perda de embriões produzidos nesta biotécnica. Neste trabalho avaliamos quais os principais patógenos bacterianos presentes nas diferentes etapas deste processo, as principais fontes de bactérias contaminantes do processo, se os prováveis efeitos decorrentes da presença de bactérias nas etapas de PIVE.

Material e Métodos

Foram utilizadas 28 fêmeas bovinas da raça nelore PO, com dificuldades reprodutivas pela monta natural, com idade variando entre 24 e 60 meses. As coletas foram realizadas em uma Central de Biotecnologia, na região nordeste do estado do Pará, a cada dois meses, durante um ano. Foram utilizados swabs estéreis para a coleta de amostras nas seguintes etapas: coleta de ovócitos (conteúdo vaginal das vacas doadoras, suspensão de captação de ovócitos coletados); separação dos ovócitos (meio de transporte, filtros e suspensão de ovócitos); meio de maturação; fertilização (meio para fecundação e sêmen utilizado) e amostras do ar ambiente de diferentes locais de realização de PIVE (área de coleta, laboratório, capela de fluxo laminar) para mensurar em UFC/m³. Todas as amostras foram semeadas em Agar sangue, Agar Mac Conkey, Agar Chapman, Caldo Uréia-Arginina e Agar Sabourand. As semeaduras foram feitas em duplicatas, sendo incubadas em aerobiose e anaerobiose em temperatura entre 35 a 37 °C em intervalo de 24 até 72 horas. As bactérias isoladas foram identificadas através de metodologia automatizada utilizando o equipamento VITEKTM bioMérieux.

Resultados e Discussão

No trato genitourinário de vacas doadoras os microrganismos mais encontrados foram os *Streptococcus sp* com 44,4%, os *Staphylococcus sp.* com 37% e a *E. coli* com 29,6% de frequência dos animais estudados. Dentre os microrganismos isolados em conteúdo vaginal de doadoras, destaca-se os *Staphylococcus spp* e a *E.coli*, recuperados de 100% dos frascos, *Streptococcus spp.* e o *Mycoplasma spp.* em 60% e a *Candida spp* em 20%. Em relação aos filtros, os agentes mais encontrados foram alguns contaminantes ambientais, principalmente *Stenotrophomonas maltophilia* com 59,3%, *Flavobacterium indologenes* com 51,8% e a *Pasteurella multocida* com 29,6%. Das cinco amostras de sêmen avaliadas, uma (20%) apresentava a presença de *Mycoplasma spp* e em duas foram isolados *Staphylococcus spp* (40%). Nos meios de cultivo utilizados para a maturação de ovócitos, em cinco frascos foram encontrados *Mycoplasma spp.* em dois deles e *Candida spp.* em um, demonstrando que os métodos de descontaminação empregados não estão sendo completamente eficientes para estes patógenos e os mesmos permanecem viáveis sendo provavelmente resistentes às drogas utilizadas. Conclui-se assim que as principais fontes de contaminação do processo foram o conteúdo vaginal de vacas doadoras de ovócitos, o sêmen usado na fertilização e o ambiente no qual se realizam as diferentes etapas de PIVE. As técnicas empregadas para redução de contaminação mostraram-se eficientes para a grande maioria das bactérias, porém não ofereceu ação contra os micoplasmas, sendo estes, entre os patógenos encontrados, o mais importante fator de morte dos embriões produzidos por PIVE.

Palavras-chave: microrganismos, PIVE, bovinos, ovócitos, sêmen, fertilização