

Avaliação *in vitro* da sensibilidade a acaricidas de populações de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no Rio Grande do Sul*

Evaluation of *in vitro* acaricide susceptibility of *Rhipicephalus (boophilus) microplus* populations in Rio Grande do Sul, Brazil

Martins, J. R.¹; Reck, J.¹; Doyle, R. L.¹; Gonzales, J. C.²; Vieira, A. W.²; Araújo, U. S.¹; Termignoni, C.²; Silva Vaz Junior, I. da²

O monitoramento da sensibilidade das populações de carrapatos aos carrapaticidas é um procedimento fundamental para o controle adequado desse ectoparasito. Nesse contexto, e considerando o avanço da resistência aos acaricidas, é preciso a identificação correta do carrapaticida a ser utilizado, sendo o Teste de Imersão de Adultos (TIA) o método preferencial de diagnóstico *in vitro*. Visando a avaliação da sensibilidade aos acaricidas, foram realizados TIA de amostras de distintas regiões do Rio Grande do Sul, durante o período de janeiro de 2009 a dezembro de 2010. Foram testados produtos amidínicos, piretróides, associações acaricidas e fipronil. Considerou-se como população resistente quando a inibição de postura foi inferior a 85% pós-tratamento. A escolha dos produtos avaliados para cada amostra baseou-se no histórico de uso de produtos na propriedade e na disponibilidade de teleóginas para o teste. Foram testados seis produtos (A1 a A6) à base de amitraz 12,5% (amidínicos). Foram observadas populações resistentes a todos os produtos amidínicos, sendo: 35,6% de amostras resistentes ao acaricida A1 (73 testes); 37,5% ao A2 (48 testes); 37,8% ao A3 (37 testes); 66% ao A4 (203 testes); 60% ao A5 (20 testes); e 84,9% ao A6 (72 testes). Foram testados quatro produtos, três à base de cipermetrina 15% (C1, C2, C3) e um de deltametrina 5%. Registraram-se amostras resistentes a todos os produtos testados, sendo: 75% de amostras resistentes ao acaricida C1 (12 testes); 62% ao C2 (58 testes); 80,8% ao C3 (68 testes); e 90,4% das amostras resistentes à deltametrina (84 testes). Dentre os produtos à base de associações de piretróides (ou amidínicos) e organofosforados, foram testadas sete diferentes formulações (PO1 a PO7). Os resultados dos testes com associações foram 4,1% de amostras resistentes ao acaricida PO1 (cipermetrina, clorpirifós, piperonila - 146 testes); 6,5% ao PO2 (cipermetrina, clorpirifós - 170 testes); 16,7% ao PO3 (cipermetrina, diclorvos - 120 testes); 29,8% ao PO4 (cipermetrina, ethion - 114 testes); 10% ao PO5 (cipermetrina, clorpirifós - 10 testes); e nenhuma amostra apresentou resistência aos produtos PO6 (amitraz, clorpirifós - 8 testes) e PO7 (cipermetrina hi-cis, clorpirifós - 58 testes). Por fim, foi avaliada a resistência ao fipronil, evidenciando-se 26,2% de amostras resistentes (145 testes). Os resultados indicaram uma situação preocupante em relação aos produtos amidínicos e piretróides, onde a maioria das populações foi confirmada como resistente. Os dados reforçam a hipótese de incremento de resistência ao fipronil e que a maioria das populações pode ser controlada com associações carrapaticidas. O delineamento de estratégias de controle, que, na maioria dos casos, incluem os acaricidas químicos, precisa considerar a importância da avaliação *in vitro* para a escolha do produto adequado.

*CNPq/Mapa.

¹Instituto de Pesquisas Veterinárias "Desidério Finamor", Fepagro Estrada do Conde, 6000. CEP 92990-000, Eldorado do Sul, RS, Brasil.
E-mail: joaorsm@terra.com.br

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Biotecnologia, Porto Alegre, RS, Brasil.

Determinação e quantificação de avermectinas em leite por cromatografia a líquido de alta resolução com detecção por fluorescência

Determination and quantification of avermectins in milk using high performance liquid chromatography with fluorescence detection

Lagêdo, L. S.; Resende, M. F.; Lemos, M. A. T.; Pereira Netto, A. D.

Atualmente, a pecuária dispõe de diferentes medidas para coibir as infecções nos animais que se apoiam no emprego de fármacos com ação profilática ou terapêutica. Nas últimas décadas, o uso dos antiparasitários tem sido uma das alternativas de tratamento de maior eficácia e de uso frequente por parte dos produtores. As avermectinas (abamectina, ivermectina, doramectina e eprinomectina) são lactonas macrocíclicas com propriedades antiparasitárias e anti-helmínticas de amplo espectro, frente às formas adultas e imaturas de nematóides que podem permanecer no produto final na forma original ou como metabólitos. A possibilidade da presença de avermectinas (AVMs) no alimento representa um potencial risco à saúde do consumidor como, por exemplo, hipersensibilidade, alergias e resistência. O objetivo do presente trabalho foi implementar condições de quantificação de AVMs em leite UHT integral de diferentes marcas, adquiridos no comércio da Cidade de Niterói, RJ, Brasil. O método de extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura (ELL-PBT) foi empregado na extração das AVMs. Com essa finalidade, 8 mL de acetonitrila foram adicionados a 4 mL de leite. A suspensão obtida foi homogeneizada em vórtex e agitador orbital e, posteriormente, congelada a -18° C por 24 horas. Após esse período, era obtido um sistema bifásico constituído da fase sólida (congelamento da fase aquosa e da matriz) e de fase líquida (sobrenadante), obtendo-se um extrato praticamente isento de água, que foi desidratado com MgSO₄. As AVMs presentes no extrato eram posteriormente derivatizadas com 1-metilimidazol, trietilamina, anidrido trifluoracético e ácido trifluoracético em condições otimizadas. A análise e quantificação dos derivados foram realizadas por CLAE com detecção por fluorescência (excitação em 365 nm e emissão em 470 nm). Os parâmetros analíticos do método foram avaliados por curvas analíticas com concentrações dos quatro derivados na faixa de 0,500 a 8,00 µg/L, resultando em limites de quantificação de 0,100 a 0,400 µg/L e coeficientes de determinação iguais a 0,999 ou 1,00. A avaliação da recuperação dos analitos foi realizada com amostras fortificadas em três níveis (5,00 10,0 e 20,0 µg/L) e em triplicatas independentes, e valores entre 69 a 93% com coeficiente de variação < 10% foram obtidos. A aplicação da metodologia desenvolvida em amostras de leite UHT integral adquiridas no mercado de varejo do Rio de Janeiro e Niterói indicou que as AVMs não foram encontradas nas amostras e que a concentração de Ivermectina era, portanto, menor que seu LMR. O método empregado apresentou boa produtividade, pois a etapa de extração é praticamente independente de manipulação.

Programa de Pós-Graduação em Química.
CNPq/Mapa; Capes; PIBIC-CNPq.

Universidade Federal Fluminense, Instituto de Química, Outeiro de São João Batista, s/nº, CEP 24020-141, Niterói, R.J, Brasil.
E-mail: annibal@vm.uff.br

Determinação espectrofotométrica de gossipol livre em fezes de ovinos utilizando-se espectros derivados em segunda ordem

Spectrophotometric determination of free gossypol in the feces of sheep using second-order derivative spectra

Cardoso, G. S.¹; Dantas, Â. M. M.¹; Pereira, E. F.¹; Amorim, F. S.¹; Silva, V. A. G. da¹; Souza, J. R. de¹; Viana, P. G.²; Louvandini, H.³

O gossipol é um pigmento polifenólico (C₃₀H₃₀O₈) encontrado naturalmente nas sementes de plantas da família Malvaceae, especialmente nas do gênero *Gossypium*. Atualmente, a semente do algodão vem sendo utilizada como complemento proteico em rações para gado, ovinos e outros animais. Contudo, estudos recentes demonstraram que a presença de gossipol em certos níveis apresenta alta toxicidade para os animais, com efeitos adversos, tais como perda de apetite, depressão da atividade respiratória, edemas pulmonares e problemas reprodutivos. Tendo em vista os efeitos tóxicos do gossipol, o objetivo do presente trabalho foi a identificação e quantificação de resíduos de gossipol em fezes de ovinos. No procedimento analítico adotado: 0,5 g de amostra foram extraídas com uma solução de acetona 70% e água 30% (v/v), por uma hora. O extrato resultante foi filtrado e acidificado com ácido clorídrico concentrado, levando-se para aquecimento a 65° C, por um período de uma hora. Em seguida, foi realizada uma extração com clorofórmio e a camada orgânica foi isolada e filtrada em funil de vidro contendo sulfato de sódio anidro. Os extratos foram concentrados em evaporador rotativo até 1 mL e secos sob fluxo suave de nitrogênio até *secura*. O extrato seco foi redissolvido com uma mistura de solventes: etanol, água destilada, éter dietílico livre de peróxido e ácido acético glacial nas proporções 59,50:23,75:16,65:0,16; respectivamente. A leitura dos extratos foi realizada por UV-Vis e a sua quantificação foi obtida da média dos módulos das alturas D₁ 292,5 nm) e D₂ (299,0 nm) nos espectros derivados em segunda ordem. O método de segunda derivativa foi utilizado para reduzir os ruídos da curva e para eliminar as constantes que interferem na quantificação do gossipol. O método analítico utilizado mostrou-se linear (R₂ = 0,9995) nos testes realizados, tendo-se encontrado nas fezes um percentual médio de gossipol livre de 0,012 ± 1,66x 10⁻⁵%. O método utilizado mostrou-se eficiente para quantificar gossipol livre em fezes.

¹Universidade de Brasília, Instituto de Química, CP 04478, CEP 70904-970, Brasília, DF, Brasil.

E-mail: fabiullamorim@gmail.com

²Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, DF, Brasil. ³Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, SP, Brasil.

Prevalência das doenças neurológicas em bovinos no Estado do Paraná*

Prevalence of neurologic diseases in cattle of Paraná state, Brazil

Azambuja, R. O.; Queiroz, G. R.; Ribeiro, R. C. L.; Pereira, P. F. V.; Romão, F. T. N. M. A.; Flaiban, K. K. M. C.; Balarin, M. R. S.; Netto, D. P.; di Santis, G. W.; Reis, A. C. F.; Bracarense, A. P. F. R. L.; Alfieri, A. A.; Lisbôa, J. A. N.

Doenças do sistema nervoso central em bovinos englobam inúmeras enfermidades e são responsáveis por perdas econômicas expressivas em todo o mundo. Dentre elas, a raiva apresenta destaque, pois corresponde a perdas estimadas em 50 milhões de dólares por ano. Essas doenças assumiram grande importância após o aparecimento da encefalopatia espongiiforme bovina (EEB) em 1987 e da sua possível relação com a doença de Creutzfeldt-Jakob (vCJD)

em humanos. Os objetivos desta pesquisa foram investigar a ocorrência das doenças nervosas em bovinos no Estado do Paraná em parceria com o Serviço Oficial Estadual de Defesa Sanitária Animal (Seab-PR), estabelecendo o diagnóstico diferencial com a raiva, e gerando informações epidemiológicas para o estabelecimento de medidas adequadas de prevenção. O levantamento clínico e epidemiológico foi realizado nas propriedades onde ocorreram as enfermidades. Exames clínicos e neurológicos dos animais acometidos foram realizados, seguidos de colheita de amostras de sangue para realização de hemograma e bioquímica sérica, e de líquido para a análise. Nos casos mais graves, foi realizada a eutanásia seguida de necropsia com colheita de fragmentos de órgãos para exame histopatológico. Fragmentos do SNC foram encaminhados para exames de raiva, EEB e PCR para BoHV 1 e 5. Análises toxicológicas e bacteriológicas foram realizadas, quando pertinentes. De março de 2009 a agosto de 2011 foram acompanhados 96 casos classificados, segundo a etiologia em: causas tóxicas (50,0%); inflamatórias/infecciosas (31,2%); físicas (4,1%); neoplásicas (3,1%); metabólicas (2,1%); degenerativas (2,1%); e inconclusivas (7,3%). Dentre as intoxicações, 58,3% foram causadas por plantas, tais como *Senna occidentalis* e *S. obtusifolia* (15,58%), síndrome tremorgênica por *Cynodon dactylon* e *C. nlemfuensis* (12,5%), *Crotalaria* spp. (10,41%), *Acanthocladus brasiliensis* (6,25%), *Ateleia glazoviana* (6,25%), *Baccharis megapotamica* (4,16%) e *Tabernaemontana catharinensis* (4,16%). Botulismo e intoxicação por nitrito/nitrato foram responsáveis por 12,5% e 14,58% dos casos tóxicos, respectivamente. Tétano e enterotoxemia por *Clostridium perfringens* foram responsáveis, cada um, por 4,16% das causas tóxicas. Micotoxicose e intoxicação por carbamato foram responsáveis por 2,08% cada uma. Das doenças de origem inflamatória/infecciosa, a raiva (36,66%) e a encefalite por BoHV-5 (43,33%) foram as mais comumente encontradas. Os sete casos inconclusivos corresponderam à encefalopatia, tetraparesia flácida, convulsão e incoordenação leve. A baixa porcentagem de casos inconclusivos deve-se à abordagem mais completa da investigação compreendendo a identificação dos fatores de risco presentes nas propriedades, a interpretação das manifestações clínicas apresentadas, a integração racional entre as diferentes rotinas laboratoriais de diagnóstico e a interpretação final do conjunto dos resultados. Pode-se concluir que, além da raiva, outras enfermidades do sistema nervoso, como a encefalite por BoHV-5 e as intoxicações por plantas, ocorrem com frequência em bovinos no Estado do Paraná, representando 42,7% do total de casos investigados.

*Apoio financeiro Mapa/CNPq 578645/2008-4.

Universidade Estadual de Londrina, CP 3001, CEP 86051-980, Londrina, PR, Brasil.

E-mail: janlisboa@uel.br

Eficiência das análises microbiológicas sobre as análises físico-químicas para o controle de qualidade do mel*

Efficiency of microbiological analysis on the physical and chemical analysis for quality control of honey

Lorenzon, M. C.^{1***}; Keller, K. M.^{1***}; Sant'ana, L. O.⁴; Devesa, M. V.⁴; Sousa, J. P. M.^{4*}; Rosa, C. A. R.³; Castro, R. N.⁴; Tassinari, W. S.⁵; Soares Neto, J.⁶

O incremento do agronegócio apícola torna premente o controle de qualidade de seus produtos, de modo a prevenir eventuais gargalos na sua comercialização e para resguardar os princípios de sanidade das abelhas. Para