

20. DETECÇÃO DE AFLATOXINAS B1, B2, G1 E G2 E ZEARELENONA EM RAÇÃO DE CÃES PELA TÉCNICA DE CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA.

FREHSE, M.S.; SCHNEEBERGER, C.; RIBEIRO, M.R.; SOUZA, L. F. C. B.; CARVALHO, L.R.L. ; NETTO, D. P. , FREIRE, R.L.

As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos principalmente por espécies de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Ocorre em cereais como consequência de manejos de produção, estocagem inadequada e condições climáticas propícias para o desenvolvimento fúngico. Podem ser encontradas em grãos utilizados como matéria prima em ração de animais de companhia. Têm potencial carcinogênico e as aflatoxinas são as que causam maior preocupação, ocasionando grandes danos à saúde humana e elevados prejuízos econômicos quanto aos animais. A zearalenona (ZEA) é uma micotoxina relacionada a efeitos no sistema reprodutivo em animais domésticos. O objetivo do estudo foi detectar a presença das micotoxinas: aflatoxina B1, B2, G1 e G2 e ZEA em ração de cadelas acometidas ou não por neoplasia mamária. Foram coletadas 140 amostras de ração: 60 amostras serviam de alimento para cadelas com tumor de mama (Grupo Caso) e 80 amostras para cadelas sem tumor (grupo Controle). Utilizou-se a metodologia de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), técnica semiquantitativa descrita por Valente Soares e Rodriguez-Amaya (1989) adaptada pelo Instituto Adolfo Lutz (1996). Das 140 amostras testadas, 21 (15%) apresentaram resultado positivo. Observou-se que das 60 amostras do grupo Caso, 13 (21,6%) foram positivas: cinco para ZEA; uma para aflatoxina B1; três para aflatoxina B2; e quatro para aflatoxina G1. Nas 80 amostras de ração do grupo Controle, oito foram positivas: três para ZEA; uma para aflatoxina B1; duas para aflatoxina G2 e três amostras apresentaram-se positivas tanto para a aflatoxina G1 quanto para aflatoxina B2, G2 e ZEA, respectivamente. De acordo com os resultados apresentados, concluiu-se que o maior número de amostras contaminadas, tanto para as do grupo Caso quanto para as do grupo Controle, foi para ZEA (oito) rações, as aflatoxinas G1 (sete), B2 (quatro), B1 (duas) e G2 (duas). Este estudo foi preliminar para o desenvolvimento de uma correlação entre a neoplasia mamária e a presença de micotoxinas na alimentação.

22. DESCRIÇÃO DA OBTENÇÃO DE AMOSTRAS DO CASCO BOVINO PARA ANÁLISE BACTERIOLÓGICA MOLECULAR DE LESÕES DE DERMATITE DIGITAL BOVINA.

NASCIMENTO, L.V.; SANTOS, C.L; OLLHOFF, R.D

RESUMO

Introdução: A dermatite digital ou doença de Mortellaro é uma inflamação contagiosa da epiderme próxima ao espaço interdigital ou a banda coronária com erosão, muitas vezes extensa e dolorosa. No início os pêlos no local estão eriçados, posteriormente tomando um aspecto granuloso. A lesão interfere no crescimento do talão produzindo um casco de má qualidade com vários sulcos e hipercrecimento do casco. Os fatores predisponentes são má higiene e umidade. Alguns autores encontraram em 2003 uma prevalência de 44% para a dermatite digital, com uma incidência anual de 12% de claudicação. Os principais agentes envolvidos parecem ser *Dichelobacter (Bacteroides) nodosus*, *Fusobacterium necrophorum* e espiroquetas do gênero *Treponema spp.* No ano de 2010 foi descartada a possibilidade do vírus do papiloma bovino (BPV) estar envolvido principalmente quanto ao aspecto proliferativo da dermatite digital. No entanto, a maioria das espécies consistentemente cultivadas, identificadas por imunohistoquímica ou técnicas de biologia molecular de lesões de dermatite digital bovina são espiroquetas do gênero *Treponema spp.* Com tudo a etiologia precisa de microrganismos patogênicos presente no casco, ainda permanece obscura devido à grande variação microbiana existente. Apesar das ferramentas biomoleculares aumentarem em importância no auxílio ao diagnóstico de enfermidades em bovinos, a colheita das amostras de campo é importante para o sucesso das análises realizadas no laboratório. As lesões do casco bovino são especialmente propícias para as ferramentas biomoleculares por conterem inúmeras espécies bacterianas comensais ou contaminantes com bactérias patogênicas. **Objetivos:** Detalhar a metodologia de obtenção de amostras de tecido do casco bovino para melhorar as possibilidades de identificação de bactérias patogênicas específicas, exemplificadas aqui pela família das espiroquetas presentes no casco bovino. **Metodologia:** Foram usados 24 vacas da raça Holandesa com lesões podais. Após contenção do bovino e observado a lesão no casco, deve-se realizar uma higienização superficial com água e sabão para a redução parcial de carga microbiana, visto que o casco está em constante contato tanto com o solo quanto com um ambiente rico em matéria orgânica como o chorume e o esterco com grande quantidade microbiana. Após tal procedimento deve-se realizar a identificação do animal assim como a mensuração da lesão, com o auxílio de uma régua e registro fotográfico. Para a obtenção de fragmentos teciduais, o membro deverá ser anestesiado com lidocaína a 2% utilizando a técnica de Bier. Retiram-se fragmentos, preferencialmente em duplicata e em volume suficiente, para que haja sobras na análise laboratorial, pois os custos para refazer a colheita são elevados e principalmente a oportunidade de voltar à propriedade e encontrar outras lesões é improvável. Os fragmentos retirados devem conter as áreas mais atingidas pela lesão assim como pequena fração de tecido saudável adjacente, garantindo a obtenção de regiões ativas em crescimento bacteriano. As amostras deverão ser acondicionadas em um meio de transporte apropriado que não interfira nas análises propostas em laboratório e, se possível, mantenha ativo a bactéria patogênica procurada. No nosso caso optamos pela preservação em PBS e outra amostra mantido a fresco, somente resfriada a temperatura entre 4 a 8°C, mantidas em caixas de isopor, até o seu processamento no laboratório. No laboratório serão mantidos a -20°C até o processamento. O processamento das amostras consta com fragmentação minuciosa do tecido e subsequente técnicas biomoleculares para a extração do DNA bacteriano. Para a identificação das bactérias em interesse foram utilizados três pares de primers, um para o gene 16s, um para *Treponema spp.* e outro para *Treponema médium/ Treponema vincentii - like*