

equinos sensibilizados. A especificidade dos antígenos foi avaliada pela comparação das reações produzidas nos animais sensibilizados e nos controles negativos. As reações foram medidas pela diferença das leituras da dobra da pele, em milímetros, em cada ponto de inoculação, antes e 48 horas após a inoculação. As médias das reações produzidas pelas maleínas experimentais e pela maleína-padrão nos animais sensibilizados foram 6,82 mm e 3,15 mm, respectivamente. No grupo controle, a média das reações produzidas pelas maleínas experimentais foi 1,80 mm. O tratamento estatístico dos dados obtidos dos testes de potência e especificidade revelou que as maleínas experimentais são mais potentes que a maleína-padrão e não produzem reações inespecíficas.

Auxílio financeiro: SDA/Mapa/CNPq (Edital nº 64/2008).

¹Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Laboratório de Retrovírus, Av. Antonio Carlos 6627, CEP 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.

E-mail: jenner@ufmg.br

²Laboratório Nacional Agropecuário, Pedro Leopoldo, MG, Brasil.

³Instituto Mineiro de Agropecuária, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Utilização de inteligência artificial (redes neurais de inteligência artificial) para a classificação de patogenicidade de amostras de *Escherichia Coli* isoladas de frangos de corte

Use of artificial intelligence (artificial neural networks) to classify the pathogenicity of Escherichia coli isolates from broilers

Salle, C.T.P.¹; Rocha, A.C.G.P.²; Souza, G.F.³; Salle, F.O.^{1*}; Moraes, L.B.^{1**}; Nascimento, V.P.¹; Moraes, H.L.S.¹

Os avanços nas pesquisas e nas ferramentas utilizadas vêm resultando no maior entendimento dos mecanismos de patogenicidade das *E. coli* e cada vez mais é demonstrada a grande importância da interação dos diversos fatores de virulência na determinação da patogenicidade. Entretanto, a diferenciação de cepas virulentas e avirulentas continua sendo um problema no diagnóstico e, por consequência, na tomada de decisão pelos veterinários de campo. Neste trabalho, são apresentadas três redes neurais de inteligência artificial que foram desenvolvidas por análise dos genes responsáveis pela capacidade de adesão, fimbria P (*papC*) e fimbria F11 (*felA*), produção de colicinas (*cvaC*), presença de aerobactina (*iutA*), resistência sérica (*iss*), hemaglutinina temperatura sensível (*tsh*) e presença dos antígenos capsulares K1 e K5 (*kpsII*), motilidade e do índice de patogenicidade (IP) para a predição ou classificação de patogenicidade de cepas de *E. coli* sem a necessidade da utilização de animais. Na Rede 1, utilizando 11 categorias de IP houve 54,27% de acerto. No intuito de melhorar o desempenho do modelo, foi criada uma segunda rede, utilizando três categorias de IP com classificação correta de 80,55%. Na tentativa de melhorar ainda mais seu desempenho, passou-se a trabalhar com apenas duas categorias, construindo, dessa forma, a Rede 3. Com essa nova configuração a classificação correta foi de 83,96%. As características do modelo permitem a classificação da patogenicidade das amostras isoladas nos galpões com bom grau de confiabilidade, levadas em conta a sensibilidade e a especificidade. Com esta metodologia a patogenicidade da amostra é conhecida sem a necessidade da inoculação de animais.

*Bolsista de Pós-Doutorado, PPG-Cirurgia.

**Bolsista CNPq, DTI 1.

Apoio Financeiro: Mapa/CNPq.

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia, Av. Bento Gonçalves, 8824, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: ctps@ufrgs.br

²Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Coordenação Geral de Laboratório, Brasília, DF, Brasil.

³Diplomata Alimentos, Concórdia, SC, Brasil. Porto Alegre, RS, Brasil.

Técnicas de identificação do Circovírus tipo 2 em suínos provenientes de granjas e matadouros do Estado de São Paulo, Brasil

Techniques for the identification of Circovirus type 2 in swine from pig farms and slaughterhouse of the state of São Paulo, Brazil

Martins, A.M.C.R.P.F.; Catroxo, M.H.B.; Bersano, J.G.; Ogata, R.

O Circovírus Suíno tipo-2 é o agente etiológico da síndrome multissistêmica do definhamento do leitão desmamado (SMDLD) ou da síndrome multissistêmica caquetizante pós-desmame. Tem sido relatado em vários países, associado ou não a achados patológicos. É uma doença emergente, que pode tornar-se um fator limitante para o desenvolvimento da suinocultura mundial, com mortalidade variando de 3% a 10%, podendo atingir 35%. O PCV-2 foi descrito, pela primeira vez, no Canadá em 1991, associado à síndrome de refugagem multissistêmica dos suínos, em animais sem sinais clínicos de enfermidade e em animais com síndrome de dermatite e nefropatia suína, distúrbios reprodutivos, síndrome do complexo respiratório suíno, pneumonia proliferativa e necrosante e tremor congênito. É um DNA vírus fita simples, não envelopado, com simetria icosaédrica, medindo de 15 a 17 nm de diâmetro e tendo a sua replicação favorecida por inibir a produção de interferon. Objetivando a detecção do PCV-2, em amostras teciduais, foram utilizadas as técnicas histopatológica, de contração negativa, de imunohistoquímica, de imunocitoquímica eletrônica (imunomarcagem com partículas de ouro coloidal em contração negativa), contribuindo para posteriores exames de rotina dessas viroses nos suínos e, portanto, colaborando com o agronegócio suínico nacional. Foram examinados 65 animais provenientes de várias cidades do Estado de São Paulo (Ibiúna, Jacarei, Pedra Bela, Franco da Rocha, Boituva, Descalvado, Embu-Guaçu e São José dos Campos). As lesões histológicas localizaram-se de forma regular nos tecidos linfóides (depleção linfocitária) (linfonodos, baço, tonsila, placas de Peyer) e pulmão, e de forma menos frequente no rim, fígado e outros tecidos. O achado relevante para o diagnóstico é a presença de células multinucleadas e inclusões basofílicas intracitoplasmáticas principalmente nos histiócitos, as quais são patognomônicas da doença. Cortes de tecidos positivos ou suspeitos pela histopatologia foram submetidos à imunohistoquímica, usando o anticorpo monoclonal. A reação antígenoanticorpo foi corada em marrom pelo DAB e visualizada em 12 animais dos 65 (18,46%) examinados. Em todos os órgãos, as células positivas foram encontradas nos infiltrados inflamatórios. Esses resultados foram confirmados pela técnica de contração negativa (preparação rápida) e de imunocitoquímica com marcação com ouro coloidal para microscopia eletrônica de transmissão, sendo visualizadas partículas de circovírus, não envelopadas, esféricas e isométricas, caracterizadas como partículas completas e vazias, medindo de 17 a 20 nm de diâmetro. A reação antígeno-anticorpo foi realizada pelas partículas de ouro coloidal. O exame coproparasitológico das fezes e alças intestinais apresentou resultados negativos. A IHQ e a imunocitoquímica foram muito sensíveis para detectar PCV-2. Como os animais eram portadores aparentemente são, fica um alerta sobre essa patologia emergente e limitante do desenvolvimento dos suínos.

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

Pesquisa de genes associados à virulência em cepas de *Pasteurella multocida* pela técnica de multiplex-PCR

Investigation of genes related with virulence in samples of *Pasteurella multocida* through the multiplex-PCR protocols

Furian, T. Q.; Borges, k. A.; Rocha, S. L. S.; Salle, C. T. P.; Moraes, H. L. S.

Os atuais sistemas de criação na avicultura baseados na alta densidade populacional aumentam os riscos de disseminação de enfermidades, especialmente das doenças respiratórias e daquelas cujos agentes etiológicos possuem mais de um hospedeiro. A cólera aviária (CA) possui essas características e geralmente apresenta-se de forma aguda e com altos índices de morbidade e de mortalidade. Apesar de representar uma das patologias aviárias que deve ser considerada para o diagnóstico diferencial de enfermidades com notificação obrigatória que cursam com morte súbita, a patogenia e os fatores de virulência envolvidos na CA ainda estão pouco elucidados. O objetivo deste trabalho foi pesquisar 15 genes associados à virulência em 25 amostras de *Pasteurella multocida* isoladas de casos de CA na região sul do Brasil, com o emprego protocolos de multiplex-PCR. Além disso, o presente estudo visou a comparar a capacidade de tipificação capsular do método molecular com testes fenotípicos. Os protocolos de multiplex-PCR empregados foram capazes de detectar todos os genes propostos. Os genes ompH, oma87, sodC, hgbA, hgbB, exBD-tonB, nanB, hyaD-hyaC estiveram presentes em 100% das amostras (25/25). Os genes sodA e nanH em 96% (24/25), o gene ptfA em 92% (23/25) e o gene pfhA em 60% (15/25). Os genes toxA, bcbD, dcbF não foram identificados em nenhuma das amostras pesquisadas (0/25). A tipificação capsular pelo teste molecular apresentou maior capacidade de detecção quando comparada aos testes fenotípicos, pois enquanto 36% (9/25) das amostras não foram identificadas pelo teste convencional, apenas 8% (1/25) não foram tipificadas através pelo multiplex-PCR. Foram obtidos seis diferentes perfis genéticos, sendo P1 (negativo para os genes toxA, dcbF e bcbD) o mais comum. Com este trabalho, concluiu-se que os protocolos de multiplex-PCR empregados são uma ferramenta bastante útil e rápida para a detecção simultânea dos genes de virulência. Apesar da alta frequência dos genes estudados e de todas as amostras pertencerem à mesma subespécie de *P. multocida*, foram observados seis perfis genéticos, os quais devem ser confirmados em um estudo com um maior número de amostras.

Apoio financeiro: Mapa/CNPq.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária, Av. Bento Gonçalves, 8824, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil.
E-mail: ctps@ufrgs.br

Resíduos antimicrobianos no leite de cabra produzido no Estado da Paraíba

Antimicrobial residues in goat milk produced in Paraíba state

Nardelli, M. J.^{1*}; Carvalho, M. G. X.¹; Nogueira, F. R. B.²; Silva, G. B.^{1*}; Silva, A. C.^{1*}; Ribeiro, M. S. S.¹; Gomes, I. S.¹; Silva, I. B.¹

O leite de cabra é uma importante fonte proteica com características de fácil digestibilidade e hipoalergenidade. A Paraíba possui elevada produção desse leite, voltada para venda ao programa governamental “Fome Zero” e à distribuição às famílias de baixa renda. O aproveitamento de seus nutrientes é eficiente se ele estiver livre de contaminantes, tais como resíduos antimicrobianos, que representam risco à saúde da população, além de provocarem prejuízos nas indústrias de processamento. O consumo de leite com esses resíduos pode ocasionar problemas digestivos e quadros alérgicos em indivíduos sensíveis. Além disso, a ingestão de pequenas concentrações favorece o estabelecimento de resistência bacteriana. Portanto, este trabalho teve como objetivo pesquisar a presença de resíduos antimicrobianos no leite de cabra *in natura*, refrigerado e pasteurizado, produzido em municípios paraibanos. As amostras foram coletadas em dois períodos do ano (chuvoso e seco) nas plataformas de recebimento de postos de resfriamento e miniusinas em 11 municípios da região do Sertão e 18 da Borborema. As amostras foram colocadas em frascos de 500 mL, identificadas com o nome dos produtores e mantidas sob refrigeração até o momento das análises, realizadas nos laboratórios da UFCG e das miniusinas. As amostras foram homogeneizadas, retirando-se uma alíquota de 10 mL em tubos de ensaio, passando por um pré-aquecimento (80° C/5min) para destruir as enzimas com atuação antimicrobianas. Em seguida, foi aplicado o teste microbiológico de triagem Deltovest SP, seguindo metodologia recomendada pelo fabricante. Das 1.148 amostras analisadas de leite de cabra *in natura*, foram encontradas 36 (3,13%) positivas e 14 (1,21%) no limite de detecção para resíduos antimicrobianos. Nas 28 refrigeradas, foram observadas duas (7,14%) positivas e nas 20 amostras pasteurizadas, todas foram negativas. A região do Sertão, apesar de possuir menor número de amostras de leite de cabra *in natura*, das 139 amostras examinadas, teve 17 (12,23%) positivas e 12 (8,63%) estavam no limite de detecção. Em relação à Borborema, com 1009 amostras coletadas, foram observadas para o leite *in natura* 19 (1,88%) positivas e duas (0,19%) no limite, além das 27 de leite de tanques de resfriamento, que apresentaram duas (7,40%) positivas. Quando estudada a distribuição da presença dos resíduos em relação à sazonalidade, observou-se que nas duas regiões o período chuvoso apresentou maior número de amostras positivas (26) e 12 no limite de detecção, em relação ao período seco, com dez positivas e duas no limite. No teste de triagem para monitoramento da presença de resíduos antimicrobianos, foram identificadas amostras positivas no leite de cabra *in natura* em tanques de resfriamento.

*Bolsistas do CNPq/Mapa.

¹Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, CP 64, CEP 58700-970, Patos, PB, Brasil.

E-mail: juvetnardelli@yahoo.com.br

²Instituto Federal da Paraíba, Sousa, PB, Brasil.

Presença de resíduos antimicrobianos após o período de carência em leite de cabras com mastite

Presence of antimicrobial residues after waiting period in milk of goats with mastitis

Silva, G. B.^{1*}; Nardelli, M. J.^{1*}; Carvalho, M. G. X.¹; Nogueira, F. R. B.²; Medeiros, N. G. A.¹; Silva, L. B.¹; Silva, A. C.^{1*}; Ribeiro, M. S. S.¹; Gomes, I. S.¹