

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 Delvotest 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

A mastite é um entrave na cadeia produtiva leiteira, reduzindo a produção e comprometendo a composição do leite. Nos rebanhos caprinos leiteiros, é frequente o emprego de antimicrobianos no tratamento dessa enfermidade e isso ocasiona a presença de resíduos no leite de consumo. A presença desses resíduos representa um problema de saúde pública, podendo causar reações alérgicas e seleção de bactérias resistentes. Esta pesquisa teve como objetivos o estudo da presença de persistência na eliminação de resíduos antimicrobianos no leite de cabras lactantes após o período de carência, a verificação da ocorrência de mastite em um rebanho e a identificação dos agentes etiológicos da enfermidade, bem como sua sensibilidade dos mesmos aos antimicrobianos. Para isso, foram coletadas amostras de 67 animais de um rebanho localizado no município de Emas, PB, no período de novembro de 2010 a janeiro de 2011, sendo realizados os testes de Tamis, California Mastitis Test (CMT), contagem de células somáticas (CCS), cultivo e isolamento bacteriano e antibiograma. Foram selecionados 11 animais com agentes infecciosos e esses foram tratados com gentamicina (intramamário) e oxitetraciclina (injetável). Após o período de carência recomendado pelo fabricante (96h), pesquisou-se a presença de resíduos por meio do teste de triagem Delvotest SP, encontrando-se como resultados positivos por animal: Tamis 10,44%, CMT 52,23%, CCS 44,77% e cultivo microbiológico 16,41%, sendo os agentes isolados *Staphylococcus* sp. e *Corynebacterium* sp. os que apresentaram resistência à penicilina, ampicilina, cloranfenicol e oxacilina. Tanto o tratamento intramamário como o intramuscular apresentaram persistência de resíduos, 33,33% e 20% respectivamente, por 144h. Além disso, 33,33% dos animais tratados com gentamicina e 20% com oxitetraciclina apresentaram crescimento bacteriano após o tratamento. Ao final da pesquisa, concluiu-se que o rebanho estudado apresentava mastite clínica e subclínica provocada por dois agentes, com resistência aos antimicrobianos. Os animais foram tratados foi constatada a persistência de resíduos dos medicamentos utilizados após o período de carência recomendado pelo fabricante.

*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.

Mastite caprina causada por *Staphylococcus* sp. e *Corynebacterium* sp. resistentes a antimicrobianos

Caprine mastitis caused by Staphylococcus sp. and Corynebacterium sp. resistant to antimicrobial

Nardelli, M.J.^{1*}; Carvalho, M.G.X.¹; Garino Júnior, F.¹; Silva, L.C.A.²; Matos, R.A.T.²; Medeiros, N.G.A.¹; Silva, G.B.^{1*}; Silva, A.C.^{1*}; Ribeiro, M.S.S.¹

Nos caprinos leiteiros, a principal enfermidade infecciosa que acomete esses animais é a mastite causada principalmente por bactérias dos gêneros *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. A utilização de terapias sem critério técnico têm favorecido o surgimento de resistência desses agentes aos antimicrobianos existentes no mercado, representando um fator de risco para a saúde pública, ao favorecer a seleção de cepas com alta patogenicidade e produtoras de toxinas, que poderão causar infecções graves no organismo humano. Esta pesquisa teve como objetivos estudar a presença de mastite clínica e subclínica em rebanhos leiteiros, identificar os agentes envolvidos e verificar a resistência dos mesmos

a antimicrobianos comercializados na Paraíba. Para isso, foram examinadas 139 cabras em lactação, provenientes de duas propriedades localizadas no sertão paraibano, utilizando os testes de Tamis, California Mastitis Test (CMT), cultivo, isolamento bacteriano e antibiograma. Foram selecionados os animais com agentes infecciosos e nesses foi aplicado o tratamento com quatro medicamentos seguindo protocolos distintos: gentamicina bisnaga, oxitetraciclina injetável, gentamicina intramuscular e intramamário, flumetasona, neomicina e espiramicina, em dez, 11, seis e dez animais, respectivamente. Os animais foram pesados, receberam o tratamento e seguiu-se o tempo de administração indicado pelos fabricantes. Decorridos cinco e dez dias do tratamento, foram repetidos os exames microbiológicos. Observou-se um percentual de mastite clínica de 10,79% e subclínica de 67,62% no CMT, sendo que 37 (26,6%) animais apresentaram infecção por *Staphylococcus* sp. e *Corynebacterium* sp., com percentual de 91,90 e 8,10 respectivamente. No antibiograma, os agentes detectados mostraram-se sensíveis aos antimicrobianos utilizados nos tratamentos, porém 24,32% apresentaram-se resistentes, com persistência do agente causador da enfermidade. A oxitetraciclina apresentou maior percentual, em que 36,36% dos animais tratados continuaram apresentando o agente e 6,89% reinfetaram-se após o término do tratamento. Os rebanhos estudados apresentaram mastite clínica e subclínica, provocadas por bactérias dos gêneros *Staphylococcus* sp. e *Corynebacterium* sp., as quais apresentaram resistência a antimicrobianos utilizados corriqueiramente nas propriedades.

*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.

Contribuição do laboratório de sanidade animal (Ladesa) para a defesa agropecuária baiana, Brasil

Contribution from the Laboratório de Sanidade Animal (Ladesa) to the agricultural defense of Bahia state, Brazil

Ribas, J. R. L.¹; Guimarães, S. A. F.^{2,4}; Almeida, A. V. A. F.^{2,4}; Macedo, A. C. C.^{2,4}; Duarte, L. F. C.^{2,4}; Santos, S. L.^{2,4}; Santana, P. C.^{2,4}; Rosa, M. R. G.^{3,4}; Rodrigues, f. M.⁴

A implementação do Centro Laboratorial de Apoio à Defesa Agropecuária foi concretizada no ano de 2009, com a aprovação de um projeto pelo edital 64/2008 CNPq/Mapa/SDA, processo nº 578512/2008-4, que teve como objetivo incrementar os diagnósticos laboratoriais nas áreas de sanidade animal e vegetal. O Laboratório de Sanidade Animal (Ladesa) foi implantado por um convênio assinado entre a Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB) e a Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola S.A. (EBDA), com a finalidade de identificar, desenvolver e adequar os principais métodos de diagnóstico na área animal, contemplando as principais enfermidades de interesse para a defesa sanitária animal nas áreas de bacteriologia, parasitologia e virologia. É importante salientar que até o ano de 2008 o único diagnóstico realizado no laboratório era o da anemia infecciosa equina (AIE). Dessa forma, salienta-se a grande evolução das ações até então desenvolvidas, com a expansão para outras enfermidades, tanto no que se refere ao desenvolvimento de ações laboratoriais de apoio a diagnóstico de enfermidades que ocorrem nas diversas regiões do Estado, bem como já desponta a realização de ações de