

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 com 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

pesquisa, a exemplo da detecção de *Salmonella* sp. em frangos abatidos sob o serviço de inspeção estadual, análise microbiológica do leite, levantamento da leucose bovina, entre outros, além da contribuição na formação de profissionais para atuar na referida área com a capacitação de acadêmicos, estudantes universitários, disponibilização de estágios curriculares e de bolsas para estudantes e veterinários com a intervenção da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb). Entre os anos de 2009 e 2011 foram analisadas ou triadas para envio a laboratórios da rede oficial (Lanagros, IMA/MG e Lacen/BA) o seguinte número de amostras: AIE (13.987), artrite encefalite caprina - CAE (1.371), Brucelose ovina (1.036), pleuropneumonia ovina - maedi-visna (81), LEB (439), salmonelose aviária (485), babesiose equina (39), raiva (312), encefalite espongiiforme bovina - EEB (57), influenza aviária (4.187), enfermidade vesicular (191), enteroparasitoses de animais de produção (104), ectima contagioso (2), dentre outros. Em 2010, visando a avaliar a ausência de circulação viral e avaliação da cobertura vacinal contra a febre aftosa em zona livre e de proteção, o laboratório aliquotou e enviou ao Lanagro/PA amostras de soro de 6.568 bovinos, contribuindo para o fortalecimento da agropecuária baiana e reconhecimento internacional da extinção da zona tampão do Estado da Bahia pela OIE e zona livre de febre aftosa com vacinação, contribuindo, efetivamente, para o desenvolvimento socioeconômico de toda a região. Ressalta-se, dessa forma, a efetiva contribuição que o referido projeto vem proporcionando ao segmento pecuário baiano, inclusive aglutinando esforços dos órgãos estaduais que atuam em prol da pecuária baiana.

¹Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia, Av. Adhemar de Barros, 967, CEP 40170-110, Salvador, BA, Brasil.

E-mail: fredericomr@hotmail.com

²Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia, Salvador, BA, Brasil.

³Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Salvador, BA, Brasil.

⁴Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola, Salvador, BA, Brasil.

Determinação e quantificação de sulfonamidas em leite por cromatografia a líquido de rápida resolução acoplada à espectrometria de massas

Determination and quantification of sulfonamides in milk using rapid resolution liquid chromatography coupled to mass spectrometry

Lemos, M. A. T.; Ochs, S. M.; Matos, C. A.; Pereira Netto, A. D.

Agentes antimicrobianos são largamente utilizados no tratamento de doenças de animais que produzem alimentos para consumo humano. As sulfonamidas são empregadas como agentes antimicrobianos e antiparasitários no gado leiteiro. Porém, essas substâncias não podem estar presentes no leite de consumo, pois podem causar hipersensibilidade em indivíduos sensíveis e propiciar a seleção de cepas resistentes a essa classe de fármacos. Assim, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) estabeleceu um limite máximo permitido (LMR) de 100 µg kg⁻¹ desses fármacos no leite. O objetivo do presente trabalho foi implementar condições de quantificação de sulfonamidas em leite UHT integral de diferentes marcas adquiridas no comércio da cidade de Niterói, RJ, Brasil. A extração das fortificações de 25 e 50 µg L⁻¹ foi avaliada em triplicata. Amostras de leite de 1 mL receberam adição de 250 e 125 µL da mistura de sulfas estudadas na concentração de 200 µg L⁻¹ em metanol e adição de 100 µL de padrão interno (*sulfameter* – 1.000 µg L⁻¹) e foram mantidas em repouso por 10 min. Posteriormente, foram adicionados 350 µL de ácido trifluoroacético 80%

em metanol para promover desproteíntização. A solução obtida foi submetida à extração por ultrassom e centrifugada. O sobrenadante foi recolhido em outro tubo. Ao *pellet*, foi adicionada solução 0,1 M de Na₂ EDTA pH 9 e o procedimento de extração foi repetido. O extrato do leite foi ajustado a pH 6 com hidróxido de sódio 1M e submetido a uma etapa de *clean-up* por extração em fase sólida com cartucho e eluição com 3 mL de metanol. O extrato resultante foi concentrado sob fluxo de nitrogênio a 40° C até o volume final de 1 mL. As sulfonamidas foram determinadas por cromatografia a líquido de rápida resolução com detecção por espectrometria de massas, utilizando-se interface de ionização química à pressão atmosférica, em modo positivo e monitoramento de reações múltiplas (MRM). Uma coluna (100 x 4,6 mm x 1,8 µm) e fase móvel composta por metanol e solução aquosa de ácido fórmico 0,05% foram empregadas. As recuperações nos dois níveis de fortificação variaram na faixa de 72 a 124% e de 75 a 103% respectivamente, com desvios-padrão relativos que variaram de 2 a 12%. Limites de quantificação de 2 a 5 µg L⁻¹ foram obtidos. De modo geral, os valores encontrados estão de acordo com os valores de LMR do Codex Alimentarius (10 µg kg⁻¹). Nas amostras de leite UHT Integral analisadas não foi detectada a presença de nenhuma das sulfonamidas estudadas.

CNPq/Mapa; Capes; PIBIC-CNPq.

Universidade Federal Fluminense, Instituto de Química, Outeiro de São João Batista, s/n°, CEP 24020-141, Niterói, R.J, Brasil.

E-mail: annibal@vm.uff.br

Produção e avaliação de vacina contra agalaxia contagiosa

Production and evaluation of vaccine against contagious agalactia

Campos, A. C.^{1*}; Silva, R. B. S.²; Cordeiro, A. A.^{2**}; Mamede, A. G.^{2**}; Alcantara, M. D. B.³; Melo, M. A.²; Castro, R. S.¹; Azevedo, E. O.²

O trabalho teve como objetivo produzir e avaliar a eficiência de três vacinas contra a agalaxia contagiosa, uma doença emergente em caprinos e ovinos do Nordeste brasileiro. Amostras de *Mycoplasma agalactiae* foram isoladas de animais naturalmente infectados, identificadas e caracterizadas por provas bioquímicas, reação em cadeia da polimerase, SDS-PAGE e western-blotting. Para avaliar a resposta sorológica, foi utilizado um ELISA indireto. As vacinas foram inativadas com formaldeído na concentração de 0,4% e adsorvidas com hidróxido de alumínio (vacina 1), montanide IMS 2215 PR VG (vacina 2) e montanide Gel 01 PR (vacina 3). Para o teste de eficiência, cada vacina foi administrada em um grupo de oito caprinos e oito ovinos, jovens e adultos, machos e fêmeas, previamente testados para agalaxia contagiosa. Um grupo de três animais por espécie foi utilizado como controle. Os animais foram imunizados com duas doses de 2 ml cada, via subcutânea, com intervalo de 21 dias. Três animais por grupo foram desafiados com 10⁷ ufc/ml de cultura de *M. agalactiae*, via oral, 65 dias após a segunda dose vacinal e acompanhados diariamente para verificação de sinais clínicos, durante 90 dias. Nas fêmeas em lactação, o inóculo também foi administrado via intramamária. Amostras de leite, suabe nasal e ocular para isolamento de *M. agalactiae* e soro sanguíneo para determinação dos títulos de anticorpos foram coletadas semanalmente. As amostras isoladas apresentaram similaridade no perfil proteico com bandas variando de 30 a 135 KDa no SDS-PAGE, sendo que a P48 apresentou maior reatividade no western-blotting. As três vacinas induziram produção de anticorpos satisfatórios, sendo mais elevados nos caprinos que nos ovinos. A vacina 2 induziu títulos mais elevados que as demais nas duas espécies. Após o desafio, nenhum sinal clínico compatível com agalaxia contagiosa foi observado