

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/nº, 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

nos animais vacinados nas duas espécies. Uma cabra do grupo controle apresentou alterações macroscópicas do leite, com redução da produção, 28 dias pós-desafio. Foi possível o isolamento de *M. agalactiae* do leite desse animal. Os grupos controles permaneceram com níveis de anticorpos abaixo do ponto de corte durante todo o período anterior ao desafio. Conclui-se que as vacinas testadas induziram níveis de anticorpos significativos. Recomenda-se a inclusão dessa enfermidade no Programa Nacional de Sanidade de Caprinos e Ovinos - PNSCO, tendo como estratégia principal a vacinação dos rebanhos.

*Bolsista da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – Facepe, doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária.

**Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Projeto financiado pelo Edital CNPq/Mapa/SDA N° 064/2008.

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n°, CEP 52171-900, Recife, PE, Brasil.

E-mail: anabutron@gmail.com

²Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, Brasil. ³Médica veterinária da Emepa, João Pessoa, PB, Brasil.

Situação epidemiológica da brucelose no Brasil

Epidemiological situation of bovine brucellosis in Brazil

Ferreira Neto, J. S.¹; Gonçalves, V. S. P.²; Amaku, M.¹; Dias, R. A.¹; Telles, E. O.¹; Lobo, J. R.³; Figueiredo, V. C. F.³; Ferreira, F.¹

Dada a importância do PNCEBT para as cadeias produtivas de carne e de leite e a falta de adequada caracterização epidemiológica da brucelose e da tuberculose no rebanho bovino brasileiro, o presente estudo traz resultados sobre a situação da brucelose em 15 Unidades Federativas (UF) (RO, MT, GO, DF, TO, BA, SE, MS, MG, ES, RJ, SP, PR, SC e RS), que detêm 82% do efetivo bovino nacional. Essas UF foram divididas em regiões e em cada uma foram amostradas, aleatoriamente, de 150 a 300 propriedades. Nas propriedades com até 99 fêmeas (≥ 24 meses), dez animais foram amostradas aleatoriamente; naquelas com cem ou mais, 15. Desses animais, foi obtida uma amostra de soro para realização do teste AAT, seguido de reteste dos positivos pelos métodos 2ME ou FC. As prevalências de focos e de animais foram calculadas por região e também, de forma consolidada, por UF. O trabalho de campo foi realizado entre outubro de 2001 e dezembro de 2004, exceto para Mato Grosso do Sul, que utilizou dados de coleta de 1998. Os resultados mostraram grande heterogeneidade entre as UF e alguns Estados mostraram importantes diferenças de prevalência entre as suas regiões. Em ordem crescente, as prevalências de focos foram: de 0,33 (0,0 ≥ IC95% ≥ 1,0) em SC, 2,06 (1,5 ≥ IC95% ≥ 2,63) no RS, 2,52 (1,02 ≥ IC95% ≥ 5,12) no DF, 4,02 (3,23 ≥ IC95% ≥ 4,8) no PR, 4,2 (3,1 ≥ IC95% ≥ 5,3) na BA, 6,04 (4,98 ≥ IC95% ≥ 7,1) em MG, 9,0 (6,97 ≥ IC95% ≥ 11,55) no ES, 9,7 (7,8 ≥ IC95% ≥ 11,6) em SP, 12,6 (9,19 ≥ IC95% ≥ 16,01) em SE, 15,42 (12,91 ≥ IC95% ≥ 17,91) no RJ, 17,54 (14,91 ≥ IC95% ≥ 20,17) em GO, 21,22 (19,33 ≥ IC95% ≥ 23,11) em TO, 35,18 (32,09 ≥ IC95% ≥ 38,36) em RO, 41,2 (38,0 ≥ IC95% ≥ 44,4) no MT e 41,6 (37,0 ≥ IC95% ≥ 46,3) no MS. Dentre os Estados que apresentaram heterogeneidades entre regiões, destacaram-se Rio Grande do Sul, Paraná e Bahia. Todo o Estado de SC, o sul do PR e o norte do RS compõem uma grande área de prevalências muito baixas, onde a vacinação com a B19 não se faz necessária e onde poderia ser implementado um sistema de vigilância para detecção e saneamento dos focos residuais. Essa experiência serviria de exemplo para o restante do País. Em situação semelhante, encontram-se o Distrito Federal e a região central da

Bahia. Os demais Estados devem baixar a prevalência com a utilização da vacina B19, vacinando, no mínimo, 80% das bezerras nascidas. Além disso, a utilização da vacina RB51 em fêmeas adultas propiciaria a obtenção de boas coberturas vacinais mais rapidamente.

Financiamento: Mapa, Adapec, Adab, Agrodefesa, CDA, Cidasc, Deagro, Iagro, Idaron, IDAF, IMA, Indea, SAA, Seaapi, Seab, Seapa, CNPq (Edital 64, centro colaborador, processo 578214/01-3) e Fapesp (recursos humanos: 32 mestres e doutores já formados ou em formação).

¹Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP 05508-270, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: jsoares@vps.fmvz.usp.br

²Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, DF, Brasil.

³Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Departamento de Saúde Animal, Brasília, DF, Brasil.

Desenvolvimento de um software para gestão das informações geradas pelo programa nacional de controle e erradicação da brucelose e tuberculose (PNCEBT) no Estado do Rio Grande do Sul*

Development of software for managing data produced by the brucellosis and tuberculosis control and eradication national program (PNCEBT) in the state of Rio Grande do Sul

Corbellini, L. G.¹; Vasconcellos, P. A.^{1**}; Carvalho, J. B. P.²; Todeschini, B.³; Hein, H.¹; Nunes, L. N.²

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT), instituído pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) em 2001, tem por objetivo específico a redução da prevalência e incidência da brucelose e tuberculose. O PNCEBT preconiza ações estratégicas de controle, como certificação voluntária de estabelecimentos de criação livres ou monitorados. Cabe ao médico veterinário habilitado (MVH) pelo Mapa a realização de testes diagnósticos e participação no processo de certificação. O processo de certificação de estabelecimentos livres, que inclui testes consecutivos dos animais do rebanho e daqueles que ingressem no estabelecimento, é complexo, gerando expressiva quantidade de dados. Um estudo com dados do PNCEBT do Estado do Rio Grande do Sul, RS, de 2008, analisou resultados de 63.226 testes individuais, evidenciando o volume de informações geradas pelo programa. Frente a esse cenário e à perspectiva da implantação de políticas de saneamento por áreas político-administrativas no RS, é imprescindível o desenvolvimento de sistemas de gestão integrada de dados como mecanismo facilitador do processo de decisão. O objetivo do projeto foi desenvolver um software para gerenciamento dos dados gerados pelos MVH. A base de dados do sistema foi desenvolvida em linguagem MySQL e a linguagem de programação do servidor foi desenvolvida em Rails. O sistema possui quatro interfaces, sendo três acessadas via web (nominadas: cadastro, web do veterinário e web do gestor) e uma acessada por um software cliente a ser instalado nos computadores dos MVH (nominado SIGEMV – Sistema Gerencial de Monitoria e Vigilância). O procedimento consiste da inserção no SIGEMV, pelo MVH, das informações da bateria de testes realizada, conforme aquelas definidas no atestado de realização de testes constante no Anexo III da Instrução Normativa nº 30/2006, além da declaração das doses utilizadas. Os dados são transmitidos ao servidor via internet. Pela web do veterinário, o MVH poderá emitir automaticamente atestados de realização de testes e relatório de utilização de antígenos.