

com menos de 30 fêmeas. O OR foi 1.94 [1.68 - 2.23] para os rebanhos com 31 a cem fêmeas, 2.98 [2.55 - 3.49] para aqueles com 101 a 400 fêmeas e 5.56 [4.53 - 6.82] para rebanhos com mais de 400 fêmeas. Esse resultado reforça a ideia, já sugerida pelos estudos de prevalência, de que os sistemas de produção pecuária mais extensivos, caracterizados por grandes rebanhos onde são frequentemente introduzidos novos animais, estão mais expostos à brucelose bovina, o que poderá explicar a prevalência alta encontrada em estados das regiões Centro-Oeste e Norte do Brasil.

*Financiado parcialmente pelo Edital CNPq/Mapa/SDA N° 064/2008.

¹Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Laboratório de Epidemiologia Veterinária, CP 4508, CEP 70910-900, Brasília, DF, Brasil.

E-mail: analourdes@unb.br

²Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil. ³Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Departamento de Saúde Animal, Brasília, DF, Brasil.

Variáveis de risco associadas à ocorrência da leptospirose e às taxas reprodutivas em veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) na região da Nhecolândia, Corumbá, MS, Brasil

Risk variables associated with the occurrence of leptospirosis and reproductive rates in pampas deer (Ozotoceros bezoarticus) in the region of Nhecolândia, Corumbá, MS, Brazil

Péres, I.A.H.F.S.¹; Vasconcellos, S.A.²; Morais, Z.M.²; Oliveira, C.E.²; Rosinha, G.M.S.³; Soares, C.O.²; Tomas, W.M.⁴; Pellegrin, A.O.¹

A *Leptospira interrogans* é um dos principais agentes etiológicos que afetam um grande número de espécies domésticas, selvagens e o homem. O veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) compartilha dos mesmos hábitos biológicos dos ruminantes domésticos no Pantanal, competindo pelos mesmos alimentos e sendo acometido pelas mesmas doenças. O presente estudo foi desenvolvido no Sudoeste da região da Nhecolândia (Corumbá, MS, Brasil), tendo como objetivo a realização de um inquérito por meio de técnicas sorológicas e moleculares de diagnóstico sobre a frequência da leptospirose em veado-campeiro, além de avaliar as variáveis de risco relacionadas com a leptospirose e associadas à ocorrência de fêmeas de veado-campeiro sem filhotes na estação de parição. Foram capturadas e identificadas 56 fêmeas e três machos de veado-campeiro para a obtenção de sangue total e soro sanguíneo para o diagnóstico molecular por PCR e sorológico da leptospirose. Em todas as fêmeas foi realizada ultrassonografia, tendo como resultado uma taxa de gestação de 98,21% (55/56). A proporção de sororreatores pela soroaglutinação microscópica (SAM) foi de 28,81% (17/59) e os sorovares Pomona e Autumnalis foram diagnosticados em 64,71% (11/17) e 29,41% (5/17) dos animais positivos, respectivamente. Utilizando-se os primers *G1/G2* e *lep1/lep2* não foi detectado DNA de *Leptospira* sp. no sangue de nenhum cervídeo. Foram identificadas, como variáveis de risco associadas ao diagnóstico positivo da leptospirose, as temperaturas retais médias acima de 38,76° C e os grupos de cervídeos formados por três ou mais indivíduos. Para a ocorrência de fêmeas de veado-campeiro sem filhotes, durante o período de parição, a primiparidade foi indicada como variável de risco.

Apoio financeiro: Edital 64 CNPq/SDA/Mapa; Sistema Embrapa de Gestão.

¹Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, CP 549, CEP 79070-900, Campo Grande, MS, Brasil.

E-mail: igorale.vet@gmail.com

²Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil.

³Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil.

⁴Embrapa, Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal, Corumbá, MS, Brasil.

Padronização do diagnóstico para as diarreias causadas por *Clostridium difficile* em animais domésticos Standardization of the diagnosis for *Clostridium difficile* associated diarrhoea in domestic animals

Silva, R. O. S.^{1*}; Pires, P. S.¹; Salvarani, F. M.¹; Passarella, A. I. T.¹; Queiroz, L. F.¹; Assis, R. A.²; Santos, R. L.¹; Lobato, F. C. F.¹

Clostridium difficile é um agente causador de colite em humanos. Em medicina veterinária, é responsável por diarreia profusa em potros e tem sido considerado o principal agente causador de diarreia neonatal não controlada em suínos. O diagnóstico é baseado na detecção das toxinas A/B por soroneutralização celular (SNC), método considerado como padrão ouro, ou por ELISA. Além disso, a genotipagem do agente fornece informações importantes com relação à epidemiologia e potencial de virulência das estirpes isoladas. O objetivo do presente trabalho foi padronizar a detecção das toxinas A/B em linhagem contínua de célula e uma PCR para detecção dos genes codificadores das toxinas A, toxinas B e toxina binária de *C. difficile*. A SNC padronizada em células VERO demonstrou-se mais sensível que dois kits de ELISA comerciais e tem-se mostrado eficiente para o diagnóstico em espécimes clínicos de leitões e potros. Com a PCR, foi possível o isolamento e genotipagem de amostras isoladas de cães, bovinos, leitões e equinos, pela primeira vez no Brasil. O próximo passo será a avaliação, com base na SNC, dos kits de ELISA comerciais em busca do mais sensível e específico por espécie doméstica. Além disso, planeja-se a avaliação da sensibilidade das estirpes de *C. difficile* isoladas frente aos antimicrobianos comumente utilizados em medicina veterinária.

Apoio financeiro: CNPq, Fapemig e Capes.

¹Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Av. Antonio Carlos, 6627, CEP 30123-970, Belo Horizonte, MG, Brasil.

E-mail: flobato@vet.ufmg.br

²LANAGRO, Pedro Leopoldo, MG, Brasil.

Diagnóstico retrospectivo de agentes causadores de mionecroses, por imunohistoquímica, em ruminantes no Mato Grosso do Sul, Brasil

Retrospective diagnosis of causative myonecrosis by immunohistochemistry in ruminants in state of Mato Grosso do Sul, Brazil

Pires, P. S.^{1*}; Ecco, R.¹; Silva, R. O. S.¹; Araújo, M. R. De²; Salvarani, F. M.¹; Passarella, A. I. T.¹; Queiroz, L. F.¹; Assis, R. A.³; Heneine, L. G. D.⁴; Santos, R. L.¹; Lobato, F. C. F.¹

Dentre as clostridioses, as mionecroses são infecções necrosantes causadas por uma ou pela associação das seguintes bactérias do gênero *Clostridium*: *C. septicum*, *C. chauvoei*, *C. novyi* tipo A e *C. perfringens* tipo A e *C. sordellii*. Trata-se de uma doença que acarreta prejuízos significativos para a pecuária brasileira, devido à elevada taxa de letalidade. A imunohistoquímica (IHQ), uma importante alternativa para o diagnóstico dessas doenças, no País, permite a utilização de materiais fixados em formol, aumentando o prazo entre a coleta e processamento laboratorial, sem interferir na confiabilidade do diagnóstico. Além disso, essa técnica viabiliza o estudo epidemiológico da frequência dos clostrídios histotóxicos, auxiliando a indústria brasileira produtora de vacinas a adequar os imunógenos oferecidos. O objetivo deste trabalho foi padronizar uma IHQ para detecção de clostrídios histotóxicos e aplicá-la no diagnóstico etiológico, em um estudo retrospectivo. A padronização da IHQ foi realizada em tecidos obtidos de cobaios experimentalmente infectados com cepas de referência de *C. septicum*, *C. chauvoei*, *C. novyi* tipo A, *C. perfringens* tipo A e *C. sordellii*, por meio da técnica da estreptavidina e biotina marcada. O diagnóstico etiológico das mionecroses foi realizado em materiais de ruminantes enviados pela Escola de Veterinária, da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, MS. Foram analisadas amostras de 28 bovinos e de quatro ovinos que morreram entre os anos de 2000 e 2010, com sinais clínicos e histopatológicos compatíveis com mionecrose. A IHQ mostrou-se específica para a detecção dos clostrídios histotóxicos nos tecidos de cobaios experimentalmente infectados. No diagnóstico etiológico retrospectivo, *C. chauvoei* foi o agente mais frequente (73,3%), seguido por *C. perfringens* tipo A (53,3%), *C. septicum* (33,3%), *C. sordellii* (13,3%) e *C. novyi* tipo A (10%). Alterações autolíticas leves e moderadas foram encontradas em 25% (n = 8) e 6% (n = 2) dos casos, respectivamente. No entanto, as lesões histológicas associadas aos numerosos bacilos detectados pela IHQ possibilitaram o diagnóstico final. Diante de métodos como a IFD, a análise do estado de conservação do material recebido tende a ser limitada a uma avaliação macroscópica. Porém, a histologia associada à IHQ permite a determinação dos parâmetros que permitem uma maior confiabilidade no diagnóstico laboratorial das mionecroses. Embora *C. perfringens* tipo A seja incriminado como causador de gangrena gasosa em humanos, o mesmo é raramente descrito em ruminantes, sendo este o primeiro estudo que contemplou a análise da frequência de *C. perfringens* tipo A. Apesar de ter sido um dos mais frequentes causadores de gangrena gasosa, ele compõe apenas uma das vacinas comercializadas no País.

Apoio financeiro: CNPq, Fapemig e Capes.

¹Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Av. Antonio Carlos, 6627, CEP 30123-970, Belo Horizonte, MG.

E-mail: flobato@vet.ufmg.br

²Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Belo Horizonte, MG, Brasil.

³Lanagro, Pedro Leopoldo, MG, Brasil. ⁴Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Ribotipagem automatizada e resistência antimicrobiana em amostras de *Salmonella* spp. isoladas do programa de redução de patógenos (PRP)

Automated ribotyping and antimicrobial resistance in samples of *Salmonella* spp. isolated of the pathogen reduction program (PRP)

Oliveira, V. G. S.¹; Gaspari, M. V.¹; Marques, F.¹; Santos, A. dos²; Freitas, J. B.³; Pignatari, A. C. C.¹

Infecções humanas causadas por *Salmonella* spp. são um importante problema de saúde pública. Dados norte-americanos estimam que anualmente são diagnosticados 1,4 milhões de novos casos, cerca de 17 mil hospitalizações e 585 mortes. Para cada caso confirmado pelo CDC, outros 38 não são reportados e 95% estão associados ao consumo de alimentos contaminados. A identificação dos sorotipos do gênero *Salmonella* é importante para a caracterização de surtos em infecções humanas e na cadeia epidemiológica relacionada a produtos alimentares. No Estado de São Paulo, o aumento no isolamento de *Salmonella enteritidis* tem sido observado desde 1993, em infecções de origem humana e não humana. Esse clone epidêmico isolado na década de 90 foi caracterizado como pertencente ao fagotipo PT-4 e a um único ribogrupo e a resistência aos antibióticos foi observada principalmente em isolados provenientes de pacientes hospitalizados. Para o tratamento de infecções humanas sérias por *Salmonella*, os antibióticos ciprofloxacina e ceftriaxona são os recomendados. Antibióticos como a enrofloxacin são utilizados em animais e podem estar relacionados ao desenvolvimento de resistência à ciprofloxacina, no tratamento de infecções humanas. A resistência aos agentes β -lactâmicos incluindo a terceira geração das cefalosporinas tem sido descrita em surtos de infecções hospitalares. O presente estudo foi desenhado para avaliar a resistência antimicrobiana e caracterizar os sorotipos de *Salmonella* spp. isolados do Programa de Redução de Patógenos (PRP) - Ministério da Agricultura do Brasil. No total, foram analisadas 1781 *Salmonella* spp. isoladas de frangos e perus de corte 2005-2009, de diferentes matadouros e laboratórios certificados. Os isolados foram testados pela técnica de disco-difusão contra os seguintes antibióticos: tetraciclina, ampicilina, sulfametoxazol/trimetoprim, ampicilina/sulbactam, enrofloxacin, ceftriaxona, gentamicina, cloranfenicol e ciprofloxacina. A tipagem molecular foi efetuada pela técnica de ribotipagem automatizada e os genes de resistência foram pesquisados pela reação em cadeia da polimerase nos isolados que apresentaram resistência fenotípica. Foram detectados 53 sorotipos diferentes e os mais prevalentes foram Enteritidis, seguido por Typhimurium e Schwarzengrund/Bredeney. Ribogrupos mais prevalentes foram: 202-S-1 e 205-S-5 nos sorotipos Enteritidis e Typhimurium respectivamente. Resistência aos antimicrobianos foi detectada na seguinte ordem decrescente: tetraciclina (22,23%), ampicilina (9,48%), sulfametoxazol/trimetoprim (5,78%), ampicilina/sulbactam (5,61%), enrofloxacin (4,88%), ceftriaxona (4,54%), gentamicina (4,15%), cloranfenicol (3,25%) e ciprofloxacina (0,50%). Entre os isolados resistentes à tetraciclina a predominância foi do gene *tetA*. Dentre os isolados resistentes à sulfa/trim e ao cloranfenicol a predominância foi dos genes *suh* e *qacE Δ 1* respectivamente. Foram detectados os genes *qnr*, principalmente o *qnrB*, nos isolados resistentes à enrofloxacin. Para os isolados resistentes aos β -lactâmicos, foram detectados os genes *bla*TEM, *bla*SHV, *bla*CMY-1 e *bla*CMY-2. Já os genes *aac*6-1b, *bla*PSE, *bla*OXA, *catA*1 e *paspp*-flor-like não foram detectados.

¹Universidade Federal de São Paulo, Laboratório Especial de Microbiologia Clínica, Rua Leandro Dupret, 188, CEP 04025-010, São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: vinicius.sales@lemc.com.br

²Laboratório Nacional Agropecuário, Campinas, SP, Brasil.

³Coordenação Geral de Apoio Laboratorial, Brasília, DF, Brasil.

Avaliação da dispersão de bezerras por rebanhos e atuação do projeto de apoio à saúde agropecuária (pasa) no índice de vacinação para brucelose bovina, norte de Minas Gerais, Brasil

Evaluation of calf distribution by herd and effectiveness of "Projeto de Apoio à Saúde Agropecuária (Pasa)" on vaccination level for bovine brucellosis on north of Minas Gerais, Brazil