

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.

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

E-mail: fredericomr@hotmail.com

<sup>2</sup>Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia, Salvador, BA, Brasil.

<sup>3</sup>Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Salvador, BA, Brasil.

<sup>4</sup>Empresa 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<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup> em metanol e adição de 100 µL de padrão interno (*sulfameter* – 1.000 µg L<sup>-1</sup>) 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 Na<sub>2</sub> 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<sup>-1</sup> foram obtidos. De modo geral, os valores encontrados estão de acordo com os valores de LMR do Codex Alimentarius (10 µg kg<sup>-1</sup>). 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.<sup>1\*</sup>; Silva, R. B. S.<sup>2</sup>; Cordeiro, A. A.<sup>2\*\*</sup>; Mamede, A. G.<sup>2\*\*</sup>; Alcantara, M. D. B.<sup>3</sup>; Melo, M. A.<sup>2</sup>; Castro, R. S.<sup>1</sup>; Azevedo, E. O.<sup>2</sup>

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 10<sup>7</sup> 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