

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.

<sup>1</sup>Universidade 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

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil. <sup>3</sup>Ministério 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.<sup>1</sup>; Vasconcellos, S.A.<sup>2</sup>; Moraes, Z.M.<sup>2</sup>; Oliveira, C.E.<sup>2</sup>; Rosinha, G.M.S.<sup>3</sup>; Soares, C.O.<sup>2</sup>; Tomas, W.M.<sup>4</sup>; Pellegrin, A.O.<sup>1</sup>

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 sororretores 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.

<sup>1</sup>Universidade 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

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

<sup>3</sup>Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil.

<sup>4</sup>Embrapa, 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.<sup>1\*</sup>; Pires, P. S.<sup>1</sup>; Salvarani, F. M.<sup>1</sup>; Passarella, A. I. T.<sup>1</sup>; Queiroz, L. F.<sup>1</sup>; Assis, R. A.<sup>2</sup>; Santos, R. L.<sup>1</sup>; Lobato, F. C. F.<sup>1</sup>

*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.

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

E-mail: flobato@vet.ufmg.br

<sup>2</sup>LANAGRO, 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.<sup>1\*</sup>; Ecco, R.<sup>1</sup>; Silva, R. O. S.<sup>1</sup>; Araújo, M. R. De<sup>2</sup>; Salvarani, F. M.<sup>1</sup>; Passarella, A. I. T.<sup>1</sup>; Queiroz, L. F.<sup>1</sup>; Assis, R. A.<sup>3</sup>; Heneine, L. G. D.<sup>4</sup>; Santos, R. L.<sup>1</sup>; Lobato, F. C. F.<sup>1</sup>

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.

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

E-mail: flobato@vet.ufmg.br

<sup>2</sup>Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Belo Horizonte, MG, Brasil.

<sup>3</sup>Lanagro, Pedro Leopoldo, MG, Brasil. <sup>4</sup>Fundação 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.<sup>1</sup>; Gaspari, M. V.<sup>1</sup>; Marques, F.<sup>1</sup>; Santos, A. dos<sup>2</sup>; Freitas, J. B.<sup>3</sup>; Pignatari, A. C. C.<sup>1</sup>

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  $\beta$ -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 $\Delta$ 1* respectivamente. Foram detectados os genes *qnr*, principalmente o *qnrB*, nos isolados resistentes à enrofloxacin. Para os isolados resistentes aos  $\beta$ -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.

<sup>1</sup>Universidade 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

<sup>2</sup>Laboratório Nacional Agropecuário, Campinas, SP, Brasil.

<sup>3</sup>Coordenação 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