

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 *qacEΔ1* 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 *blaTEM*, *blaSHV*, *blaCMY-1* e *blaCMY-2*. Já os genes *aac6-1b*, *blaPSE*, *blaOXA*, *catA1* 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