

Essa tela mostra inicialmente apenas um conteúdo básico. Marque abaixo as opções de sessões da submissão que deseja visualizar e clique no botão 'Consultar' para atualizar a tela.

- SELECIONAR TODOS**
- Identificação Plano de Ação
 Descrição e Estrutura Orçamento
 Caracterização Atividades
 Equipe Orçamento
 Detalhamento Dados Gerais do Orçamento
 Anexos Totalização por itens de dispêndio
 Questionários



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento



Visualização da Submissão

Identificação

Edital:	Chamada 10/2013 - Prioridades do Portfolio Sanidade Animal
Macroprograma:	Macroprograma 2
Linha Temática:	Desenvolvimento e produção de insumos para diagnóstico ou controle de doenças de animais.
Tipo da Submissão:	Proposta
Estado da Submissão (na data de impressão - 15/12/2016):	em execução
Líder:	FLABIO RIBEIRO ARAUJO
Instituição do Líder(Na Submissão):	Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte
Cargo no SIRH:	PESQUISADOR A
Código SEG:	02.13.10.008.00.00
Título do Projeto:	Avaliação de estratégia multidialgística para o saneamento de propriedades com tuberculose bovina
Sigla:	MULTB
Título em Inglês:	Multidiagnostic strategy evaluation for sanitation of farms with bovine tuberculosis
Data de Início:	01/05/2016
Duração(meses):	36
Data término:	30/04/2019
Web Site:	
Palavras-chaves:	Tuberculose bovina, ELISA, Nested-PCR, Maldi-TOF, Imunohistoquímica

Associado ao(s) Portfolio(s):

Sanidade Animal

Descrição e Estrutura

O presente projeto tem por objetivo desenvolver um sistema aplicável ao rastreamento de bovinos com tuberculose (TB) e voltado ao saneamento de propriedades rurais focos da doença, utilizando-se de uma abordagem multidialgística. O projeto prevê a adição de diferentes técnicas, adicionais ao esquema oficial preconizado pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal. Busca também desenvolver redes neurais artificiais para apoiar o diagnóstico de TB bovina, definindo os métodos mais eficazes de diagnóstico e fornecendo informação estatística adicional. Objetiva ainda uma melhor caracterização genotípica dos isolados de *M. bovis* recuperados. As investigações científicas serão realizadas em 25 rebanhos

Resumo: em Mato Grosso do Sul e 25 rebanhos no Rio Grande do Sul, de exploração leiteira, com focos de TB identificados por meio do Teste Cervical Comparativo (TCC) e sucederão com avaliações dos animais pelos métodos de ELISA quimérico e nested-PCR de leite e secreção nasal, no intuito de identificar possíveis anérgicos. Posteriormente, todos os animais positivos aos testes de TCC e um percentual dos animais TCC negativos/ELISA positivos serão avaliados quanto à presença de *M. bovis* em tecidos, por meio da avaliação por imunohistoquímica, cultivo microbiano e nested-PCR. As colônias resultantes do cultivo serão testadas por espectrometria de massas (MALDI-TOF) e PCR. Pretende-se também contribuir com a caracterização genética de isolados brasileiros de *M. bovis* por Spoligotyping, MIRU-VNTR e sequenciamento genômico, avaliando associações entre os 'clusters' identificados com as respostas aos testes diagnósticos. Com essa pesquisa almeja-se acelerar o processo de saneamento de rebanhos bovinos infectados e conhecer o impacto zoonótico desta enfermidade.

Objetivo Geral: Avaliar uma estratégia multidialgística para detecção da Tuberculose Bovina (TB) em rebanhos bovinos naturalmente infectados, que possibilite a aceleração no saneamento de focos

- Identificar propriedades rurais com focos de TB mediante o uso do teste cervical comparativo (TCC), segundo as normas do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT)

- Em cada rebanho infectado, testar os soros de todos os animais avaliados ao TCC por ELISA com antígeno recombinante quimérico MPB70/MPB83/ESAT-6

- Avaliar e comparar a detecção de *M. bovis* na excreção nasal e leite de vacas em rebanhos infectados, mediante nested-PCR e cultivo

- Em animais positivos ao TCC ou ELISA, comparar a detecção de *M. bovis* em tecidos por meio de cultivo microbiano, nested-PCR e imunohistoquímica

Objetivos Específicos: Genotipar os isolados de *M. bovis* obtidos em cultivo, por meio de spoligotyping, MIRU e sequenciamento genômico, e associar os padrões encontrados com os perfis de resposta no TCC e ELISA, e presença e severidade das lesões nos tecidos

- Empregar espectrometria de massas MALDI-TOF para montar um banco de perfis espectrais de massas (fingerprinting de proteínas) e identificar espécies do gênero *Mycobacterium* a partir do cultivo microbiológico in vitro, em substituição aos métodos bioquímicos

- Desenvolver um software baseado em rede neural artificial para tomada de decisões que oriente a escolha das provas diagnósticas e as medidas de controle da tuberculose bovina

- Comparar a cobertura diagnóstica fornecida pela adição das técnicas diagnósticas propostas (ELISA, nested-PCR, imunohistoquímica, MALDI-TOF) ao esquema oficial preconizado pelo PNCEBT

- Validar a associação de técnicas de diagnóstico da tuberculose bovina, junto aos LANAGROS de diferentes estados.

Resultados (Formato Novo)

Resultado nº: 1

Vinculado ao Plano de Ação: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida pelos diferentes métodos

tipo de Resultado: Apoio à formação de estudantes de graduação e pós-graduação

Título: Formação de alunos em cursos de mestrado e doutorado

Descrição: Formação de alunos em cursos de mestrado e doutorado em Ciências Veterinárias

Ano previsão de Alcance : 2018

Resultado nº: 2

Vinculado ao Plano de Ação: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida pelos diferentes métodos

tipo de Resultado: Softwares para Clientes Externos

Título: Software baseado em redes neurais, para apoio a decisões de diagnóstico da tuberculose bovina

Descrição: Software baseado em redes neurais, para apoio a decisões de diagnóstico da tuberculose bovina, levando em conta diferentes testes de diagnóstico empregados e o peso de cada um individualmente e coletivamente, para o diagnóstico final.

Ano previsão de Alcance : 2018

Resultado nº: 3

Vinculado ao Plano de Ação: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida pelos diferentes métodos

tipo de Resultado: Negócio Tecnológico

Título: Método diagnóstico da tuberculose bovina, baseado em ensaio sorológico de imunoabsorção enzimática (ELISA) com quimera recombinante

Descrição: Método diagnóstico da tuberculose bovina, baseado em ensaio sorológico de imunoabsorção enzimática (ELISA), com quimera recombinante MPB70/MPB83/ESAT-6

Ano previsão de Alcance : 2018

Resultado nº: 4

Vinculado ao Plano de Ação: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida pelos diferentes métodos

tipo de Resultado: Processo melhorado, metodologia ou estudo técnico, organizacional ou gerencial

Título: Adaptação de metodologia de diagnóstico molecular da tuberculose bovina, baseado em nested-PCR, para detecção de *Mycobacterium bovis* em swabs nasais e leite

Descrição: Adaptação de metodologia de diagnóstico molecular da tuberculose bovina, baseado em nested-PCR, para detecção de Mycobacterium bovis em swabs nasais e leite, como provas ante-mortem.

Ano previsão de Alcance : 2018

Resultado nº: 5

Vinculado ao Plano de Ação: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida pelos diferentes métodos

tipo de Resultado: Processo melhorado, metodologia ou estudo técnico, organizacional ou gerencial

Título: Adaptação de metodologia de espectrometria de massas (MALDI-TOF) para detecção de Mycobacterium bovis em cultivos de material suspeito de tuberculose bovina

Descrição: Adaptação de metodologia de espectrometria de massas (MALDI-TOF) para detecção de Mycobacterium bovis em cultivos de material suspeito de tuberculose bovina

Ano previsão de Alcance : 2018

Caracterização

Área de Conhecimento

Priorizado	Área	Subárea	Especialização	Disciplina
	Ciências Agrárias	Medicina Veterinária	Medicina Veterinária Preventiva	Doenças Infecciosas de Animais
	Ciências Agrárias	Medicina Veterinária	Medicina Veterinária Preventiva	Saneamento Aplicado a Saúde do Homem
X	Ciências Agrárias	Medicina Veterinária	Medicina Veterinária Preventiva	Saúde Animal (Programas Sanitários)

Equipe

Nome ⇄	Função ⇄	Instituição ⇄	E-mail ⇄
CLAUDIO SEVERO LOMBARDO DE BARROS	Responsável Atividade	Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul	claudioslbarros@uol.com.br
FLABIO RIBEIRO ARAUJO	Líder Projeto, Responsável Plano de Ação, Responsável Atividade	Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte	flabio.araujo@embrapa.br
GISELE OLIVAS DE CAMPOS LEGUIZAMON	Responsável Atividade	Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte	gisele.leguizamon@embrapa.br
Jose Manoel de Seixas	Responsável Atividade	Universidade Federal do Rio de Janeiro	seixas@lps.ufrj.br
Klaúdia dos Santos Gonçalves Jorge	Responsável Atividade	Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul	klaudia.jorge@ufms.br
LENITA RAMIRES DOS SANTOS	Responsável Plano de Ação, Responsável Atividade	Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte	lenita.santos@embrapa.br
Martín José Zumárraga	Responsável Plano de Ação, Responsável Atividade	Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária (Argentina)	mzumarraga@cni.inta.gov.ar
NEWTON VALERIO VERBISCK	Responsável Plano de Ação, Responsável Atividade	Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte	newton.verbisck@embrapa.br
Nalvo Franco de Almeida Júnior	Responsável Atividade	Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul	nalvo@facom.ufms.br

Detalhamento

Referências bibliográficas

ARAÚJO, C. P.; OSÓRIO, A. L. A. R.; JORGE, K. S. G.; RAMOS, C. A. N.; S. FILHO, A. F.; VIDAL, C. E. S.; ROXO, E.; NISHIBE, C.; ALMEIDA, N. F.; F. JUNIOR, A. A.; SILVA, M. R.; B. NETO, J. D.; CERQUEIRA, V. D.; ZUMARRAGA, M. J.; ARAÚJO, F. R. Detection of Mycobacterium bovis in bovine and bubaline tissues using nested-PCR for TbD1. Plos One, v.9, n. 3, p.1-6, 2014.

AYELE, W. Y.; NEILL, S. D.; ZINSSTAG, J.; WEISS, M. G.; PAVLIK, I. Bovine tuberculosis: an old disease but a new threat to Africa. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, v. 8, n. 8, p. 924–937, 2004.

BRASIL, Decreto no 30.691, de 29 de março de 1952. Diário [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 07 de julho de 1952, p. 10785.

_____. Fax/ Circular conjunto DIPOA/DSA 001 de 2012. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Disponível em: Acesso em: 19 mar 2014.

_____. Instrução Normativa no 6 de 8 de janeiro de 2004. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 12 de janeiro de 2004, pág 7, seção 1.

_____. Instrução Normativa no 62 de 29 dezembro de 2011b. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 30 de dezembro de 2011, pág 6, seção 1.

CASAL, C.; DíEZ-GUERRIER, A.; ÁLVAREZ, J.; RODRIGUEZ-CAMPOS, S.; MATEOS, A.; LINSOTT, R.; MATEL, E.; LAWRENCE, J. C. A.; WHELAN, C.; CLARKE, J.; O'BRIEN, A.; DOMÍNGUEZ, L.; ARANAZ, A. Strategic use of serology for the diagnosis of bovine tuberculosis after intradermal skin testing. *Veterinary Microbiology*, in press, 2014.

CORNER, L. A. Post mortem diagnosis of Mycobacterium bovis infection in cattle. *Veterinary Microbiology*, v. 40, p. 53-63, 1994.

de KANTOR, I. N.; AMBROGGI, M.; POGGI, S.; MORCILLO, N.; TELLES, M. A. S.; RIBEIRO, M. O.; TORRES, M. C. G.; POLO, C. L.; RIBÓN, W.; GARCÍA, V.; KUFFO, D.; ASECOS, L.; CAMPOS, L. M. V.; RIVAS, C.; WAARD, J. H. Human Mycobacterium bovis infection in ten Latin American countries. *Tuberculosis*, v. 88, p. 358-365, 2008.

FERREIRA, D. D.; SEIXAS, J. M. Qualidade de Dados Via Árvores de Decisão em Apoio ao Diagnóstico da Tuberculose Pulmonar. In: Congresso Brasileiro de Automática, Bonito- MS, p. 2278-2282, 2010.

FRANCO, M. M. J.; PAES, A. C.; RIBEIRO, M. G.; PANTOJA, J. C. F.; SANTOS, A. C. B.; MIYATA, M.; LEITE, C. Q. F.; MOTTA, R. G.; LISTONI, F. J. P. Occurrence of mycobacteria in bovine milk samples from both individual and collective bulk tanks at farms and informal markets in the southeast region of São Paulo, Brazil. *BMC Veterinary Research*, v. 9, n. 85, p. 1-8, 2013.

FURLANETTO, L. V.; FIGUEIREDO, E. E. S.; CONTE JÚNIOR, C. A.; CARVALHO, R. C. T.; SILVA, F. G. S.; SILVA, J. T.; LILENBAUM, W.; PASCHOALIN, V. M. F. Uso de métodos complementares na inspeção post mortem de carcaças com suspeita de tuberculose bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 32, n. 11, p. 1138-1144, 2012.

GOOD, M.; DUIGNAN, A. Perspectives on the history of bovine TB and the role of tuberculin in bovine TB eradication. *Veterinary Medicine International*, 2011, 11p.

HAYKIN, S. *Neural networks and Learning Machines*, 3rd ed. Prentice Hall., 2008.

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção Pecuária Municipal 2012. Disponível em: Acesso em: 19 mar 2014.

JORGE, K. S. G. Identificação de Mycobacterium bovis em bovinos e sua importância na ocorrência de tuberculose zoonótica Tese de Doutorado. Apresentada ao Programa de Pós- graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2010.

KAMERBEEK, J.; SCHOULS, L.; KOLK, A.; VAN AGTERVELD, M.; VAN SOOLINGEN, D.; KUIJPER, S.; BUNSCHOTEN, A.; MOLHUIZEN, H.; SHAW, R.; GOYAL, M.; VAN EMBDEN, J. Simultaneous detection and strain differentiation of Mycobacterium tuberculosis for diagnosis and epidemiology. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 35, n. 4, p. 907-914, 1997.

KHÉCHINE, A. E.; COUDERC, C.; FLAUDRUPS, C.; RAOULT, D.; DRANCOURT, M.; Matrix- Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry Identification of Mycobacteria in Routine Clinical Practice. *Plos One*, 2011. Disponível em < <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0024720>> Acesso em 28 de julho de 2014.

LEITE, C. Q. F.; ANNO, I. S.; LEITE, S. R. A.; ROXO, E.; MORLOCK, G. P.; COOKSEY, R. C. Isolation and Identification of Mycobacteria from Livestock Specimens and Milk Obtained in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 98, n. 3, p. 319-323, 2003.

LILENBAUM, W.; FONSECA, L. S. The use of ELISA as a complementary tool for bovine tuberculosis control in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 43, n. 2, p. 256-261, 2006.

LISTA, F.; REUBSAET, F. A. G.; de SANTIS, R.; PARCHEN, R. R.; JONG, A. L.; KIEBOOM, J.; van der LAAKEN, A. L.; VOSKAMP-VISSER, I. A.; FILLO, S.; JANSEN, H. J.; PLAS, J. V.; PAAUW, A. Reliable identification at the species level of Brucella isolates with MALDI-TOF-MS. *BMC Microbiology*, v.11, p.267, 2011.

MAIDANCHIK, C. L. L.; SEIXAS, J.M.; GRAEL, F. F.; FERREIRA, F. G.; TORRES, R. C.; GOMES, A. A. S.; FAIER, J. M.; SILVA, J. R. L. ; MELLO, F. C. Q.; KRITSKI, A. L.; SOUZA FILHO, J. B. O. A Decision Support System Based on Artificial Neural Networks for Pulmonary Tuberculosis Diagnosis In: *Efficient Decision Support Systems - Practice and Challenges in Biomedical Related Domain* ed.: In Tech, 2011, p. 301-328, 2011.

MARASSI, C. D.; MEDEIROS, L.; FIGUEIREDO, E.; FONSECA, L. S.; DUARTE, R.; PASCHOALIN, V.; OELEMANN, W. M. R.; LILENBAUM, W. A multidisciplinary approach to diagnose naturally occurring bovine tuberculosis in Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, n. 1, p. 15-20, 2013.

MEDEIROS, L. S.; MARASSI, C. D.; FIGUEIREDO, E. E. S.; LILENBAUM, W. Potential application of new diagnostic methods for controlling bovine tuberculosis. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 41, n. 7, p. 1-11, 2010.

MENIN, A.; FLEITH, R.; RECK, C.; MARLOW, M.; FERNANDES, P.; 1, PILATI, C.; BÁFICA, A. asymptomatic cattle naturally infected with Mycobacterium bovis present exacerbated tissue pathology and bacterial dissemination. *Plos One*, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2013.

MICHEL, A. L.; MULLER, B.; van HELDEN, P. D. Mycobacterium bovis at the animal-human interface: A problem, or not? *Veterinary Microbiology*, v. 140, p. 371-378, 2010.

MILLER, J. M.; JENNY, A. L.; PAYER, J. B. Polymerase chain reaction detection of Mycobacterium tuberculosis complex and Mycobacterium avium organisms in formalin-fixed tissues from culture- negative ruminants. *Veterinary Microbiology*, v. 87, p.15–23, 2002.

MONAGHAN, M.; DOHERTY, M. L.; COLLINS, D.; KAZDA, J. D.; QUINN, P. J.; The tuberculin test. *Veterinary Microbiology*, v. 40, p. 111-124, 1994.

NEILL, S. D.; POLLOCK, J. M.; BRYSON, D. B.; HANNA, J. Pathogenesis of Mycobacterium bovis infection in cattle. *Veterinary Microbiology*, v.40, n.1-2, p.41-52, 1994.

NIITSUMA, K.; SAITO, M.; KOSHIBA, S.; KANEKO, M. Identification of mycobacteria by matrix- assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry--using reference strains and clinical isolates of Mycobacterium. *Kekkaku*, v. 89, n. 5, p. 555-563, 2014.

O'REILLY, L. M.; DABORN, C. J. The epidemiology of Mycobacterium bovis infections in animals and man: a review. *Tubercle and Lung Disease*, v. 76, n. 1, p. 1-46, 1995.

PARRA, A.; GARCÍA, N.; GARCÍA, A.; LACOMBE, A.; MORENO, F.; FREIRE, F.; MORAN, J.; HERMOSO DE MENDOZA, J. Development of a molecular diagnostic test applied to experimental abattoir surveillance on bovine tuberculosis. *Veterinary Microbiology*, v. 127, n. 3-4, p. 315-324, 2008.

PETROFF, S. A. A new and rapid method for the isolation and cultivation of tubercle bacilli directly from the sputum and feces. *The Journal of Experimental Medicine*, v. 21, p.38-42, 1915.

RIET-CORREA, F.; GARCIA, M. Tuberculose. In: Riet-Correa, F.; Schild, A. L.; Lemos, R. A. A.; Borges, J. R. J. *Doenças de ruminantes e equinos*. 3.ed, Santa Maria: Pallotti, 2007. 722p.

SAUER, S.; FREIWALD, A.; MAIER, T.; KUBE, M.; REINHARDT, R.; KOSTRZEWA, M.; GEIDER, K. Classification and Identification of Bacteria by Mass Spectrometry and Computational Analysis. *Plos one*, 2008. Disponível em < <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0002843>> Acesso em 28 de julho de 2014.

SEIXAS, J. M.; MELLO, F. C. Q.; SANTOS, A. M.; PEREIRA, B. B.; KRITSKI, A. L. Neural Networks: An Application for Predicting Smear Negative Pulmonary Tuberculosis. In: BALAKRISHNAN, N.; AUGET, J.L.; MESBAH, M.; MOLENBERGHS, G. *Advances in Statistical Methods for the Health Sciences*. Alemanha: Hardcover/ Birkhäuser, p. 279-292, 2006.

SHITTU, A.; CLIFTON-HADLEY, R. S.; ELY, E. R.; UPTON, P. U.; DOWNS, S. H. Factors associated with bovine tuberculosis confirmation rates in suspect lesions found in cattle at routine slaughter in Great Britain, 2003–2008. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 110, p. 395-404, 2013.

SKUJEC, R. A.; MCCORRY, T. P.; MCCARROLL, J. F.; RORING, S. M. M.; SCOTT, A. N.; BRITAIN, D.; HUGHES, S.L.; HEWINSON, R.G.; NEILL, S.D. Discrimination of Mycobacterium tuberculosis complex bacteria using novel VNTR-PCR targets. *Microbiology*, v. 148, p. 519–528, 2002.

SOUZA, I. I. F.; MELO, E. S. P.; RAMOS, C. A. N.; FARIAS, T. A.; OSÓRIO, A. L. A. R.; JORGE, K. S. G.; VIDAL, C. E. S.; SILVA, A. S.; SILVA, M. R.; PELLEGRIN, A. O.; ARAÚJO, F. R. Screening of recombinant proteins as antigens in indirect ELISA for diagnosis of bovine tuberculosis. *Springer Plus*, v. 1, n. 77, p. 1-6, 2012.

SUPPLY, P.; MAZARA, E.; LESJEAN, S.; VINCENT, V.; GICQUEL, B.; LOCHT, C. Variable minisatellite-like regions in the Mycobacterium tuberculosis genome. *Molecular Microbiology*, v. 36, p. 762-771, 2000.

TRAJMAN, A.; SILVA, J. R. L. E.; KRITSKI, A. L.; SEIXAS, J. M. DE; VIEIRA, A. F. M.; BELO, N. E. Novel Tests in Parallel for Diagnostic Tuberculous Pleuritis. In: *American Thoracic Society International Conference*, San Diego, EUA. *Proceedings of American Thoracic Society*, v. 179. p. A3210-A 3217, 2009.

ZARDEN, C. F. O.; MARASSI, C. D.; FUGUEIREDO, E. E. S.; LILENBAUM, W. Mycobacterium bovis detection from milk of negative skin test

cows. Veterinary Record, n. 2, 2013 disponível em < <http://veterinaryrecord.bmj.com/content/172/5/130.1.full.pdf+html?sid=357e7db8-1781-4818-beb3-f568887bef17> em 29 de março de 2014.

ZUMARRAGA, M. J.; SOUTULLO, A.; GARCÍA, M. I.; MARINI, R.; ABDALA, A.; TARABLA, H.; ECHAIDE, S.; LÓPEZ, M.; ZERVINI, E.; CANAL, A.; CATALDI, A. A. Detection of Mycobacterium bovis-infected dairy herds using PCR in bulk tank milk samples Foodborne Pathogens and Disease, v. 9, n. 2, p.132-137, 2012.

Informações adicionais

Caracterização do problema focado pelo projeto

A Tuberculose Bovina (TB) é uma importante enfermidade infectocontagiosa causada pela bactéria *Mycobacterium bovis* (O'REILLY; DABORN, 1995). Bovinos e búfalos são suscetíveis à doença, mas diversas espécies podem ser afetadas, inclusive o homem (AYELE et al., 2004). Entretanto, a maior parte dos animais infectados é assintomática, ainda que possa graves lesões teciduais com cargas de micobactérias viáveis, passíveis de disseminação (MENIN et al., 2013).

A infecção por *M. bovis* em humanos, de forma geral, parece estar associada a regiões geográficas onde a tuberculose é endêmica nos rebanhos bovinos (MICHEL et al., 2010). As contaminações aerógena e digestória são consideradas importantes formas de disseminação do agente para humanos a partir de bovinos, especialmente favorecidas pelo estreito contato entre trabalhadores e animais infectados em matadouros/ frigoríficos ou pelo consumo de leite in natura e seus derivados não pasteurizados (de KANTOR et al., 2008).

A TB possui uma alta relevância econômica, considerando sua capacidade em afetar a produtividade dos animais e influenciar o agronegócio, em especial o comércio internacional, bem como de produtos e subprodutos de origem animal (JORGE, 2010; MICHEL et al., 2010). Embargos à exportação brasileira de carne para seu principal mercado consumidor internacional, a União Aduaneira (Rússia, Bielorrússia e Cazaquistão), já ocorreram em virtude da doença, e a partir disso foram criadas regras comerciais de sanidade mais severas que precisam hoje ser obedecidas (BRASIL, 2012). As imposições destes mercados têm demandado a geração de ferramentas tecnológicas para o diagnóstico mais rápido e preciso da TB.

Atualmente, a base do controle da TB no Brasil é o monitoramento dos rebanhos por meio do teste intradérmico a derivados proteicos purificados (PPD) de *M. bovis* associado, em algumas ocasiões, a avaliações patológicas e cultivo bacteriológico (BRASIL, 2004).

Algumas investigações a respeito da capacidade de cobertura desta estratégia diagnóstica, entretanto, identificaram casos da doença, a princípio não revelados, quando complementaram as técnicas oficiais com outros testes laboratoriais (LEITE et al., 2003; LILENBAUM, FONSECA, 2006; PARRA et al., 2008; FURLANETTO et al., 2012; ZUMARRAGA et al., 2012; FRANCO et al., 2013; MARASSI et al., 2013; ZARDEN et al., 2013; CASAL et al., 2014). Esses autores corroboram com a ideia de que o sucesso na identificação de animais tuberculosos está vinculado a combinações de vários métodos capazes de identificar animais infectados em diferentes estágios da infecção, reconhecendo as limitações individuais de cada técnica.

Assim, o presente projeto pretende desenvolver um sistema aplicável ao rastreamento de bovinos infectados e voltado ao saneamento de propriedades rurais focos de TB utilizando-se de uma abordagem multidagnóstica, com adição ao esquema oficial preconizado pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT) das técnicas de ELISA com antígeno recombinante quimérico MPB70/MPB83/ESAT-6 e de nested-PCRs para *Mycobacterium bovis* em amostras de leite e de tecidos.

Adicionalmente, a partir das análises pretende-se desenvolver uma rede neural artificial que apoie o diagnóstico da TB, definindo os métodos mais eficazes de diagnóstico e fornecendo informações estatísticas, proporcionando mais uma ferramenta para controle e/ou erradicação da enfermidade e cobindo equívocos de interpretação dos resultados. Um sistema móvel de coleta de informações epidemiológicas e de manejo será projetado usando netbooks de baixo custo, de tal modo que os dados possam ser acessados remotamente.

De forma complementar, também se busca montar um banco espectral, utilizando a técnica de espectrometria de massa MALDI-TOF, das micobactérias identificadas e isoladas por cultivo microbiano nas regiões em estudo, o qual poderá substituir técnicas bioquímicas de identificação de *M. bovis*, as quais são mais laboriosas.

A principal finalidade pretendida é acelerar o saneamento de propriedades com tuberculose bovina e ampliar o número de propriedades certificadas livres da doença, mitigando-se os riscos de transmissão de tuberculose zoonótica especialmente por garantia da segurança alimentar.

Hipótese ou questões técnico-científicas

O teste de ELISA com antígeno recombinante quimérico MPB70/MPB83/ESAT-6 identifica animais infectados com *Mycobacterium bovis*, porém falso-negativos ao teste intradérmico, preconizado pelo MAPA?

Animais negativos ao teste cervical comparativo (TCC), mas positivos ao ELISA, excretam *M. bovis* pelo leite/secreção nasal em quantidades detectáveis por métodos moleculares ou cultivo?

Método imunohistoquímico adiciona informações diagnósticas relevantes ao diagnóstico da tuberculose bovina?

Qual a diversidade dos genótipos de *M. bovis* encontrados em MS e RS?

Diferentes genótipos de *M. bovis* refletem diferentes padrões de resposta no TCC e ELISA, ou presença e severidade das lesões nos tecidos?

A espectrometria de massas MALDI-TOF pode substituir métodos bioquímicos para identificar espécies do gênero *Mycobacterium* a partir do cultivo microbiológico in vitro?

Redes neurais artificiais podem apontar quais provas diagnósticas e as medidas de controle da tuberculose bovina são mais eficazes?

A cobertura diagnóstica fornecida pela adição das técnicas diagnósticas propostas no projeto é maior que o esquema oficial preconizado pelo PNCEBT?

Estado da arte

Programas de controle da tuberculose bovina realizados mundialmente são baseados na identificação e eliminação de animais infectados (SHITTU et al., 2013). No Brasil, desde a Instrução Normativa nº6 de 2004, vigora a regulamentação técnica do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT), que entre outras coisas, estabelece a obrigatoriedade de resultados negativos ao teste intradérmico com PPD (derivado proteico purificado) em bovinos e bubalinos para fins de emissão de Guia de Trânsito Animal (GTA) ou de certificação/monitoramento do status livre para a enfermidade (BRASIL, 2004).

Também são consideradas dentre as ações de controle da Tuberculose bovina no país as estabelecidas pelo RIISPOA (Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal), legitimado pelo Decreto nº 30.691 de 1952, atualização pela IN nº 62 de 2011, que determina o abate discriminatório (abate sanitário) dos animais reagentes ou inconclusivos ao teste intradérmico ou, adicionalmente, condenações parciais ou totais de carcaças diante da identificação de lesões sugestivas de tuberculose (LST) durante abate regular, além do descarte do leite de vacas positivas em fazendas produtoras de leite tipo "A", seguidos de notificação e encaminhamento de material suspeito para confirmação do diagnóstico em laboratórios credenciados pelo MAPA, por meio de cultivo bacteriano (BRASIL, 1952; BRASIL, 2011b).

Entretanto, as técnicas preconizadas no programa nacional, quando avaliadas individualmente, apresentam limitações na identificação de animais infectados em diferentes fases da infecção (MEDEIROS et al., 2010). Resultados falso-negativos no teste intradérmico podem ser verificados em animais cronicamente infectados, ou ainda durante o final da gestação (pós-parto), em animais desnutridos e em animais sob uso inadequado de drogas imunossupressoras (MEDEIROS et al., 2010; GOOD, DUIGNAN, 2011).

Mesmo durante um surto de TB, uma vez que um animal é classificado como negativo pelos testes intradérmicos, não há nenhuma recomendação para testes adicionais pelo PNCEBT, mesmo reconhecendo-se que os testes intradérmicos não são 100% sensíveis, o que coloca em risco o controle da infecção (ZARDEN et al., 2013).

Zarden et al. (2013), por exemplo, trabalhando em um rebanho infectado por *M. bovis*, identificaram a presença de *M. bovis* em 5 de 8 (62,5%) amostras de leite de vacas negativas ao teste cervical comparativo (TCC).

Além disso, os animais submetidos ao teste intradérmico cervical simples/TCS (apenas com PPD de *M. bovis*) tornam-se dessensibilizados temporariamente, isto é, apresentam capacidade diminuída para responder a um novo teste, a qual é recuperada somente após um período de 42 a 60 dias (MONAGHAN et al., 1994; GOOD, DUGNAN, 2011). Com isso, pelo PNCEBT, animais com TCS só podem ser submetidos ao TCC (PPD de *M. bovis* e de *M. avium*), que é confirmatório, após intervalo mínimo de 60 dias (BRASIL, 2004), podendo, neste período, ser fonte de infecção.

Outra limitação existente na atual estratégia de diagnóstico oficial da TB no Brasil refere-se à identificação etiológica das lesões sugestivas de tuberculose (LST) nos animais submetidos ao abate sanitário após teste intradérmico, ou mesmo em rebanhos comerciais, nos achados das inspeções de rotina em abatedouros. Apesar de *M. bovis* ser o agente mais usual das LSTs na espécie bovina, outras espécies de micobactérias (AMENI et al., 2010) e microrganismos de outros gêneros, tais como os causadores de actinobacilose, piogranuloma estafilocócico, mucormicose, coccidioidomicose, pentastomíase, hidatidose policística (RIET-CORREA e GARCIA, 2007) já foram descritos como capazes de induzir respostas inflamatórias semelhantes.

O cultivo bacteriano é considerado padrão-ouro para diagnóstico da tuberculose. No entanto, apresenta limitações, já que micobactérias patogênicas crescem lentamente (em até 90 dias, ou mais), sendo que 10% das amostras de *M. bovis* só apresentam colônias visíveis após 60 dias de cultivo. Além disso, a eficiência do mesmo só é alcançada quando as lesões apresentam uma concentração de micobactérias iguais ou superiores a 10³ unidades formadora de colônia/mL (UFC/mL), uma limitação para o diagnóstico nas fases iniciais da infecção (CORNER, 1994). De forma semelhante, lesões crônicas podem conter uma baixa concentração de micobactérias viáveis, o que compromete o seu crescimento em meio de cultivo (MILLER et al., 2002). Ademais, o cultivo e a subsequente pesquisa de bacilos álcool-ácidos resistentes (BAAR), após coloração específica, não distinguem *M. bovis* de outras micobactérias, nem de outros BAAR, como os gêneros *Nocardia*, *Rhodococcus* e *Corynebacterium* (CORNER, 1994; NEILL et al., 1994).

Pelo exposto, torna-se necessária a confirmação por outros métodos, como as provas bioquímicas, as quais demandam quantidade apreciável de colônias novas, puras e abundantes, condição só alcançada após sucessivos repiques a partir do primo isolamento (CORNER, 1994; MICHEL et al., 2010). Desta forma, os métodos moleculares, baseados na amplificação de DNA de *M. bovis* por PCR, especialmente aqueles que envolvem reações em tempo real, têm sido cada vez mais estudados para detecção do patógeno, diretamente em LST, ou em cultivos, para identificação etiológica, uma vez que suplantam diversas limitações das estratégias tradicionais.

Técnicas proteômicas também se mostram promissoras para a identificação de *M. bovis* em cultivos, especialmente as baseadas em MALDI-TOF, e com custo inferiores à identificação bioquímica (NIITSUMA et al., 2014).

A introdução de novos testes de diagnóstico, de forma a acompanhar os avanços científicos e tecnológicos é prevista no artigo 5º do PNCEBT (BRASIL, 2004). E nesse sentido, a rede de pesquisa componente deste projeto tem trabalhado intensamente no desenvolvimento de novas ferramentas de diagnóstico da TB. Um teste sorológico ELISA baseado nas proteínas MPB70/MPB83/ESAT-6 expressas em fusão (quimera) apresentou sensibilidade de 83,2% e especificidade de 86,5% (SOUZA et al., 2012).

Métodos sorológicos são bastante úteis nas situações em que ocorre o fenômeno de anergia (ausência da resposta imune celular). Em dois rebanhos do Rio de Janeiro, Lilenbaum e Fonseca (2006) identificaram animais infectados com *M. bovis*, negativos ao teste intradérmico, porém positivos sorologicamente e confirmados por achados de LSTs ao abate e por cultivo bacteriano.

Casal et al. (2014) realizaram na Espanha uma investigação abrangente sobre associações e correlações de diversos métodos para a eficácia do diagnóstico de TB. Foram analisadas avaliações da resposta imune celular (teste intradérmico e de produção de INF- γ), avaliações da resposta imune humoral (ELISA e quimioluminescência) e os testes histopatológico e de cultivo bacteriano. Foi verificado um melhor desempenho pela associação do teste cutâneo, INF- γ e qualquer um dos testes sorológicos, entretanto nenhum dos testes indiretos foi capaz de identificar corretamente animais com LSTs e/ou positivos na cultura.

A rede de pesquisa deste projeto também desenvolveu uma nested-PCR para TbD1, visando a detecção de *M. bovis* diretamente em tecidos. O teste apresentou sensibilidade clínica de 76% e especificidade de 100%. Demonstrou performance semelhante ao cultivo na detecção de animais TCC+ com LST ou de animais TCC+ sem lesões visíveis; e superior para animais com LST sem histórico de TCC (ARAÚJO et al., 2014).

Apesar da existência de diversas alternativas diagnósticas que potencialmente podem agregar maior cobertura à identificação de animais com tuberculose, distintos fatores epidemiológicos, como a prevalência das infecções, padrões raciais bovinos, estágio da infecção, etc., podem ter influência nas melhores escolhas em termos de técnicas de diagnóstico a serem empregadas. Por exemplo, a existência de animais cronicamente infectados em propriedades de exploração leiteira, sem histórico prévio de adoção de medidas de controle, pode sugerir a ocorrência de animais anérgicos, para os quais, a escolha de métodos sorológicos de diagnóstico pode ser mais indicada. No entanto, pela natureza multifacetada destas informações, as abordagens estatísticas para tomada de decisões nem sempre são satisfatórias ou acessíveis. O uso de redes neurais artificiais vem obtendo resultados bastante significativos na detecção de tuberculose humana (HAYKIN, 2008). O sistema NeuralTB usa modelos baseado em redes MLP (Multi-layer Perceptron, treinamento supervisionado) e ART (Adaptive Resonance Theory, treinamento não supervisionado) para determinar a probabilidade de um paciente estar ou não com tuberculose pulmonar e associar a este um grupo de risco (baixo, médio e alto), baseando-se em sintomas e sinais obtidos diretamente do paciente (SEIXAS et al., 2006; MAIDANTCHIK et al., 2007). O sistema opera apoiando a triagem e o exame médico de pacientes e é usado por médicos e enfermeiros como um escore de obtenção rápida para encaminhar o tratamento. Modelos para a associação TB-HIV, TB infantil, TB multirresistente e para a internação de pacientes estão sendo construídos e apresentam resultados preliminares bastante animadores.

No momento, o sistema NeuralTB está tendo o seu custo-efetividade avaliado em sete cidades e quinze locais no Brasil (hospitais e postos de saúde), com recursos do Ministério da Saúde, numa atuação conjunta da COPPE, Faculdade de Medicina e Hospital Universitário da UFRJ com parceiros da área de saúde de diferentes municípios e estados brasileiros.

A aplicação de redes neurais em TB foi estendida para a tuberculose pleural, com resultados bastante encorajadores (TRAJMAN et al., 2009). No caso da tuberculose pleural, a análise do pós-teste, quando vários exames são analisados e o modelo neural conjuga os seus resultados, produzindo uma elevada sensibilidade e alta especificidade, assemelha-se ao caso bovino, onde vários testes estão sendo aplicados de forma independente ou combinados. No caso da TB bovina, deseja-se construir um diagnóstico de alta acuidade e identificar os testes que são decisivos ao diagnóstico. Desta maneira, pretende-se desenvolver um modelo baseado em redes neurais artificiais que possa ser aplicado ao caso da tuberculose bovina, apoiando-se na experiência adquirida em tuberculose humana, em particular no pós-teste de tuberculose pleural.

O sucesso de ações, no sentido de desenvolver sistemas computacionais de apoio ao diagnóstico, depende fundamentalmente da qualidade dos dados que são utilizados. Dados com problemas podem comprometer a qualidade do resultado do processo de decisões, aumentar o custo do processo em si e torná-lo mais lento. Técnicas de processamento de sinais e inteligência computacional vêm se tornando uma ferramenta importante também nesta área, o que permite desenvolver sistemas que monitoram a qualidade de dados. A monitoração da qualidade de dados usa a análise de componentes independentes, teoria de informação, técnicas de filtragem e redes neurais. Índices de qualidade são atribuídos à informação e dados faltantes são tratados. Na área médica, também já se começou a usar tais técnicas, permitindo que os sistemas computacionais atuem de forma mais eficiente. No caso do sistema NeuralTB, modelos de qualidade de dados são utilizados usando redes neurais e árvores de decisão (FERREIRA; SEIXAS, 2010). No projeto proposto, introduziremos estas técnicas para monitorar os dados colhidos para os exames de TB bovina, tratando dados inconsistentes ou faltantes.

Estratégia de ação

A estratégia de ação do projeto está sumarizada em um PDF anexo.

1. PA Gerencial

Coordenado pela Embrapa Gado de Corte (Flávio Araújo), contando com a ajuda, nesta Unidade, do analista Maxwell Andreu e a técnica Gisele Leguizamon. Consta de uma atividade de gestão técnica, coordenada pelo pesquisador, e uma administrativa, coordenada pela técnica.

2. PA: Avaliação de métodos ante-mortem para detecção da infecção por *Mycobacterium bovis*

Será coordenado pela Embrapa Gado de Corte (Lenita Santos). Constam três atividades, todas também coordenadas pela Embrapa Gado de Corte:

2.1 Identificação de propriedades rurais com focos de tuberculose (TB) bovina mediante o teste cervical comparativo.

Atividade imprescindível para o desenvolvimento dos demais PAs e Atividades. A identificação de propriedades rurais com foco de TB nos estados da BA, RS, SC e PR contará com o apoio de veterinários habilitados pelo MAPA. As amostras colhidas nestas propriedades serão armazenadas no CNPGC e serão enviadas, quando necessário, para os parceiros do projeto.

A atividade envolverá pesquisadores da Embrapa Gado de Corte (Flávio Araújo, responsável), Embrapa Pecuária Sul (Emanuelle Gaspar), e da Secretaria da Agricultura, Pecuária, Pesca e Agronegócio do Estado do Rio Grande do Sul (Rodrigo Etges).

2.2 Avaliação sorológica de bovinos por ELISA com antígeno recombinante quimérico MPB70/MPB83/ESAT-6

A atividade 2.2 envolve a detecção ante-mortem de bovinos infectados por *M. bovis* por sorologia, mediante prova de ELISA com proteína recombinante. Esta atividade, que envolve organismo geneticamente modificado, já recebeu autorização da CTNbio (anexo). A empresa Americana Ellie lab irá colaborar nessa atividade, na melhoria do desempenho do teste ELISA. Esta atividade envolverá pesquisadores da

Embrapa Gado de Corte (Lenita Santos, responsável; e Flávio Araújo) e alunos de doutorado (Ana Beatriz Castelão e Ingrid Souza). Ela é crucial para o PA5, porque estimará a capacidade do teste sorológico em detectar animais falso-negativos, testados na intradermorreação 2.3. Detecção de *Mycobacterium bovis* na excreção nasal e leite de vacas em rebanhos infectados, mediante nested-PCR e cultivo

A atividade 2.3 utilizará uma prova de nested-PCR, padronizada na Embrapa Gado de Corte e originalmente usada para tecidos de bovinos, e métodos microbiológicos para a detecção de *M. bovis* em excreção nasal e leite de vacas, como provas ante-mortem. Envolverá pesquisadores da Embrapa Gado de Corte (Flávio Araújo, responsável; e Lenita Santos) e alunos de doutorado (Ana Castelão e Ingrid Souza). Ela é crucial para o PA 5.

As atividades 2.2 e 2.3 serão independentes entre si, porém terão o mesmo objetivo de identificação ante-mortem de animais infectados com *M. bovis*, complementando o teste intradérmico na atividade 2.1. Aqui há hipótese de que os testes das atividades 2.2 e 2.3 aumentarão a cobertura diagnóstica fornecida na atividade 2.1, a qual será objeto de estudo do Plano de Ação 5.

3. PA: Avaliação de métodos post-mortem para detecção da infecção por *Mycobacterium bovis*

Este PA será coordenado pela Embrapa Gado de Corte (Flávio Araújo). Todo o plano é dependente da atividade 2.1. Constará das atividades:

3.1. Detecção de *Mycobacterium bovis* em tecidos por meio de imunohistoquímica

Esta atividade será executada na UFMS (Claudio de Barros, responsável; Tessie Martins). Os tecidos, obtidos a partir dos bovinos infectados que sofrerem abate sanitário (PA 2), serão analisados por imunohistoquímica para *M. bovis*. Esta atividade dará subsídios ao PA 5.

3.2. Detecção de *Mycobacterium bovis* em tecidos por meio de cultivo celular

Esta atividade envolverá pesquisador da UFMS (Klaúdia Jorge, responsável), da Embrapa Gado de Corte (Lenita Santos) e da técnica Gisele Leguizamon. Os tecidos, obtidos a partir dos bovinos infectados que sofrerem abate sanitário (PA 2), serão cultivados em meio Stonebrink. Eventuais micobactérias ambientais serão identificadas na Embrapa Suínos e Aves (José Pandolfi) Esta atividade dará subsídios para o PA 5.

3.3. Detecção de *Mycobacterium bovis* em tecidos por meio de nested-PCR

Esta atividade envolverá pesquisador da Embrapa Gado de Corte (Flávio Araújo, responsável) e da UFMS (Carlos Ramos) e alunos de doutorado (Ana Castelão e Ingrid Souza). Análises confirmatórias serão feitas no LANAGRO de MG, pelo pesquisador Antônio Fonseca Júnior. Os tecidos obtidos a partir dos bovinos infectados que sofrerem abate sanitário (PA 2), serão testados para a presença de *M. bovis* por nested-PCR, atividade que dará subsídios para o PA 5.

3.4 Identificação de *Mycobacterium bovis* em cultivo por espectrometria de massas

Esta atividade será coordenada pela Embrapa Gado de Corte (Newton Valério), e prevê a análise de colônias obtidas na atividade 3.2 por espectrometria de massas. Portanto, é dependente daquela atividade. Estas análises serão feitas em espectrômetro de massas disponível na Embrapa Gado de Corte. Essa atividade fornecerá subsídios para o PA 5.

4. PA: Genotipagem de isolados de *Mycobacterium bovis*

Este PA será coordenado pelo INTA, Argentina, constando de duas atividades:

4.1. Genotipagem de isolados de *Mycobacterium bovis* por MIRU e spoligotyping

A Embrapa Gado de Corte enviará amostras de DNA extraído dos cultivos realizados na atividade 2.2 para o pesquisador Martín Zumárraga, INTA, Argentina, responsável pela atividade, para realização de genotipagem por métodos clássicos. Como não é possível repassar recursos da Embrapa ao INTA, o material de consumo a ser usado na genotipagem clássica será pago com a contrapartida do CNPq (anexo).

4.2. Genotipagem de isolados de *Mycobacterium bovis* por sequenciamento genômico

Os cultivos obtidos terão DNA extraído na Embrapa Gado de Corte serão sequenciados no LANAGRO-MG, pelo pesquisador Antônio Fonseca Júnior. A montagem, anotação e análises genômicas serão feitas pelo pesquisador Nalvo Almeida Jr, da UFMS, responsável pela atividade.

Todas as atividades desse plano dependem da atividade 2.2. Estas duas atividades são independentes uma da outra e não são cruciais para os demais planos, mas fornecerão informações epidemiológicas importantes para o PA 5.

5. PA: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida pelos diferentes métodos

Este plano é dependente da maioria das atividades anteriores, conforme citado, e será coordenado pelo Dr. Newton Verbisck, da Embrapa Gado de Corte. Compreende duas atividades:

5.1 Desenvolvimento de software baseado para tomada de decisões de diagnóstico da TB bovina

5.2 Avaliação da cobertura diagnóstica da TB bovina, fornecida por diferentes testes

A atividade 5.1 será coordenada pelo Laboratório de Processamento de Sinais da UFRJ e envolve a criação de um software para tomada de decisões diagnósticas. Desta forma, esta atividade depende da maioria dos planos de ação anteriores. À medida que os diferentes métodos forem sendo utilizados, os resultados alimentarão esta atividade.

A atividade 5.2, coordenada pela Embrapa Gado de Corte (Flávio Ribeiro de Araújo), e contará com a participação do Dr. Walter Lilienbaum, da UFF, envolve a análise dos dados obtidos, usando o software já desenvolvido na atividade anterior. Portanto, a atividade 5.2 é dependente da 5.1.

Metodologia

Origem das amostras: o estudo será realizado em propriedades rurais nos Estados da Bahia, Minas Gerais, Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul. Espera-se trabalhar com 60 propriedades ao todo, caracterizadas por exploração leiteira, nas quais os médicos veterinários habilitados pelo MAPA estejam fazendo diagnóstico de tuberculose.

Aspectos éticos: o projeto será submetido ao Comitê de Ética no uso de Animais em Experimentação (CEUA) da Embrapa Gado de Corte.

Identificação de propriedades rurais com focos de TB: A identificação de propriedades rurais com foco será considerada quando da obtenção de animais reagentes na realização do teste cervical comparativo (TCC), por veterinários habilitados pelo MAPA, segundo o PNCEBT. Todos os animais positivos ao TCC serão marcados a ferro candente no lado direito da face com um P, afastados da produção leiteira, isolados de todo o rebanho e sacrificados no prazo máximo de 30 (trinta) dias após o diagnóstico, em estabelecimento sob o serviço de inspeção oficial, indicado pelo serviço de defesa oficial federal ou estadual. Na impossibilidade de sacrifício em estabelecimento sob o serviço de inspeção oficial, o mesmo será realizado no estabelecimento de criação, sob a fiscalização direta da unidade local do serviço de defesa oficial, respeitando procedimentos estabelecidos pelo Departamento de Defesa Animal (BRASIL, 2004). Serão também consideradas propriedades focos aquelas que originarem animais que durante o abate regular (de descarte) apresentar lesões sugestivas de tuberculose (LST) ou dos quais, em leite, swab ou tecidos sejam detectado *M. bovis* por cultivo ou nested-PCR.

Detecção de bovinos positivos para anticorpos contra *M. bovis*: todos os animais submetidos ao TCC, no momento de sua realização, terão amostras de sangue colhidas para obtenção de soro. As amostras séricas serão avaliadas para a presença de anticorpos contra *M. bovis* em ELISA com o antígeno recombinante quimérico MPB70/MPB83/ESAT-6, segundo protocolo descrito por Souza et al. (2012).

Detecção de *M. bovis* em swabs nasais e leite: todos os animais submetidos ao TCC, no momento de sua realização, terão amostras de leite (vacas) e swabs nasais para detecção de *M. bovis* por nested-PCR e cultivo.

Processamento de tecidos, leite e swabs nasais: em todos os animais positivos ao TCC, submetidos ao abate sanitário, e nas vacas negativas ao TCC, porém positivas no ELISA, eventualmente descartadas durante o projeto, serão investigadas a ocorrência de lesões sugestivas de tuberculose (LST) no momento do abate. Caso haja identificação, as LST serão colhidas e encaminhadas para análise. Na ausência de LST, serão colhidos linfonodos hepáticos, mediastínicos, mesentéricos, retrofaríngeos e traqueobrônquicos. Parte dos tecidos coletados será imersa em formol a 10% para imunohistoquímica. Outra parte será conservada em refrigeração até chegar ao laboratório com nível 3 de biossegurança da Embrapa Gado de Corte, onde as amostras serão mantidas a -30°C até processamento. As amostras teciduais serão descongeladas e divididas em duas alíquotas: uma para a cultura e isolamento microbiano e outra para a extração de DNA. Das vacas negativas ao TCC e positivas no ELISA, um volume de 50 mL de leite cru será obtido. Posteriormente, serão centrifugados individualmente a 3.000 rpm durante 15 min, e a camada de células obtida será lavada duas vezes com PBS estéril para remover a gordura do leite a partir do sobrenadante. O sedimento será suspenso em 4 mL de PBS estéril, e em seguida 2 mL serão cultivados. Os outros 2 mL serão aquecidos a 70°C durante 70 min para inativação dos microrganismos e, em seguida, armazenados a -20°C até a extração de DNA genômico.

Avaliação das amostras teciduais obtidas durante abates por imunohistoquímica: Os cortes dos tecidos terão a peroxidase endógena inibida

com solução de peróxido de hidrogênio a 3%, sobre a placa agitadora, por 30 minutos em temperatura ambiente. Após isso, os cortes serão tratados com tampão citrato em banho-maria a 96°C, por 30 minutos, para a recuperação antigênica. Passado esse tempo, as lâminas foram colocadas em temperatura ambiente por 20 minutos para esfriar e banhadas em TBS. Para inibição de ligações inespecíficas, os cortes serão bloqueados com uma solução de leite e albumina de sangue bovino, por 1 hora a 37°C. O anticorpo primário (Dako, EUA) será incubado por 30 minutos, seguida da incubação com anticorpo secundário biotilado por mais 30 minutos e, por fim, com a enzima estreptoavidina marcada com a peroxidase por 30 minutos. A incubação com o cromógeno à base de diaminobenzidina (DAB) devidamente diluído permitirá a revelação de cor marrom-escura e, por fim, os cortes serão contracorados com hematoxilina por 30 segundos, desidratados em banhos de álcool, clarificados em banhos de xilol e montados com lâminulas.

Cultivo de *M. bovis*: As amostras de tecido serão descongeladas e homogeneizadas em aparelho MagnaLyser (Roche) em solução salina. As suspensões de tecido serão filtradas em gaze estéril e centrifugadas a 1200 x g durante 15 minutos. Os sedimentos serão suspensos em 2 mL de solução salina estéril, submetidas ao método de descontaminação de Petroff (1915) e cultivadas em meio Stonebrink. As amostras de leite descontaminadas e de swab também serão cultivadas no mesmo meio. As culturas serão incubadas a 37°C e observadas semanalmente durante pelo menos 90 dias. Os esfregaços das colônias isoladas serão corados pelo método de Ziehl-Neelsen (ZN) para bacilos álcool-ácido-resistentes (BAAR). Todas as culturas BAAR serão analisadas por nested-PCR para *M. bovis* (ARAÚJO et al., 2014) e MALDI-TOF.

Extração de DNA de cultivo, tecidos, swab nasais e leite: Para extração de DNA de tecidos, as amostras serão cortadas em fragmentos de aproximadamente 100 mg, correspondente à transição entre as áreas de lesões macroscópicas e aparentemente saudáveis. Estas peças serão completamente homogeneizadas em aparelho Magna Lyzer (Roche) com 1 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS). A partir destas suspensões, 200 µL serão utilizados para extração de DNA com kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen), seguindo as instruções do fabricante. As extrações de DNA das amostras de leite e de cultivo BAAR positivos também serão feitas com o mesmo kit.

Deteção de *M. bovis* por nested-PCR: As amostras de material de cultivo microbiano, tecidos, swabs nasais e leite pós-extração de DNA serão testadas para a presença de *M. bovis* por meio do sistema de nested-PCR, preconizado por Araújo et al. (2014), que se baseia na amplificação da região TbD1. Para todas as reações de nested-PCR, um controle positivo com DNA de *M. bovis* AN5, um controle negativo sem DNA e um controle negativo com DNA de *M. tuberculosis* H37Rv serão incluídos.

Caracterização genética de *M. bovis* por Spoligotyping: Os isolados obtidos ao longo do estudo serão avaliados segundo o protocolo descrito por Kamerbeek et al. (1997). A identificação dos padrões de hibridação ou "spoligotipos" será comparada com os incluídos na base de dados internacional Veterinary Laboratories Agency do Reino Unido.

Caracterização genética de *M. bovis* por MIRU: Os isolados obtidos ao longo do estudo serão avaliados de acordo com o protocolo descrito por Supply et al. (2000) e Sukece et al. (2002). Serão analisados 24 loci e os padrões serão expressos com um número no qual cada dígito corresponde ao número de unidades repetitivas em cada loci.

Sequenciamento genômico: As amostras de DNA dos cultivos dos isolados obtidos no estudo serão sequenciadas em aparelho MiSeq (Illumina). Após a montagem dos reads e a anotação do genoma (draft), segundo protocolo da nossa rede de pesquisa (NISHIBE et al., 2013; CANEVARI CASTELÃO, 2014), os genomas serão depositados em página particular da rede e no Bioproject PRJNA214551 no NCBI. Serão feitas análises genotípicas mediante a presença de SNPs e baseada na presença de genes para proteínas ortólogas.

Extração das proteínas das bactérias para análise por MALDI-TOF: Com finalidade de produzir os espectros de referência das espécies do gênero *Mycobacterium* serão utilizadas amostras de *M. bovis*, *M. tuberculosis* e *M. avium*, previamente identificadas por sequenciamento genômico e disponíveis no Laboratório de Imunologia da Embrapa Gado de Corte. Após o isolamento de colônias em placas com os meios seletivos apropriados para cada gênero bacteriano, as células bacterianas de três colônias serão transferidas para um microtubo de 1,5 mL contendo água deionizada estéril e, em seguida, homogeneizadas para subsequente extração pelo método etanol/ácido fórmico descrito a seguir. As células bacterianas serão centrifugadas durante 1 minuto a 16.000 x g e o meio de cultivo será descartado. As proteínas bacterianas serão extraídas conforme descrito (KHÉCHINE et al., 2011). Após adição de etanol absoluto (70% final) às células coletadas na etapa anterior, estas serão centrifugadas durante 1 minuto a 16.000 x g, sendo o sobrenadante novamente descartado. Os precipitados serão brevemente secos em temperatura ambiente e ressuspensos com 50 µL de ácido fórmico (Sigma-Aldrich) 70% em água (v/v) e misturado por pipetagem, seguido pela adição de 50 µL de acetonitrila 100%. Essa mistura será novamente centrifugada durante 1 minuto a 16.000 x g, com subsequente aplicação de 1 µL do sobrenadante na placa de MALDI-TOF. Após secagem ao ar em temperatura ambiente, cada amostra será recoberta com 1 µL de matriz para MALDI, no caso ácido alfa-ciano-4-hidróxicinâmico em solvente orgânico TA50 (50% de acetonitrila e 2,5% de ácido trifluoracético). Após secagem ao ar em temperatura ambiente, as amostras terão seus espectros de massas adquiridos.

Aquisição, processamento e análise dos espectros de massas por MALDI-TOF: Os espectros de massas serão adquiridos em um equipamento MALDI-TOF Autoflex III Smartbeam (BrukerDaltonics), disponível na Embrapa Gado de Corte, empregando-se o modo linear positivo com uma frequência de laser de 200 Hz em uma faixa de massas de 2.000 a 20.000 Daltons. Para cada espectro serão coletados e analisados 500 tiros de laser. Os espectros serão calibrados externamente com mistura padrão de proteínas de *E. coli* (Bacterial Test Standard, BrukerDaltonics). O processamento e análise dos espectros serão feitos com o programa MALDI Biotyper 2.0 e o banco de dados de espectros de referência Reference Library 3.0 (BrukerDaltonics) (SAUER et al., 2008; LISTA et al., 2011).

Análise estatística: A eficiência dos métodos será avaliada por meio do cálculo da sensibilidade e especificidade do método testado. A linha de corte (cutoff) de cada teste será escolhida como sendo o valor que permita a divisão mais acurada entre os soros positivos e negativos. A correlação entre os testes, juntamente com seus valores de sensibilidade, será comparada segundo o método do qui-quadrado, bem como pelo cálculo do índice de correlação k (índice Kappa). Testes utilizando o índice SP (produto normalizado das médias geométrica e aritmética da sensibilidade e especificidade), que produz modelos equilibrados de sensibilidade e especificidade serão realizados, buscando-se índices de desempenho adequados a diferentes cenários de aplicação. Os modelos neurais baseados em Multi-layer Perceptron (MLP) -treinamento supervisionado utilizarão a curva ROC e o índice SP avaliados sobre o conjunto de teste como figuras de mérito.

Modelo Neural: O modelo neural será construído com base nos resultados dos testes propostos, utilizando a arquitetura MLP, com três camadas, sem realimentação e com treinamento RProp. Esta topologia irá avaliar o conjunto de exames e produzir um score para a TB bovina. Um teste de relevância será aplicado sobre o modelo neural construído, utilizando-se o mapeamento de relevância. Um segundo modelo irá buscar o agrupamento (clustering) dos testes, baseando-se em treinamento não supervisionado. Neste caso, a exploração dos dados se baseará na rede Adaptive Resonancy Theory, treinamento não supervisionado, e em SOM (Self-Organizing Map) (HAYKIN, 2008). Os agrupamentos poderão revelar a relação entre os testes e, em conjunto com o mapeamento de relevância, irão identificar os testes essenciais para o diagnóstico da TB bovina.

Qualidade de Dados: O sistema de monitoração da qualidade de dados utilizará modelos estatísticos básicos em conjunto com técnicas sofisticadas de processamento de sinais, visando identificar outliers nas densidades de probabilidade e anomalias na informação colhida para os diferentes testes a serem realizados. Testes aplicando árvores de decisão, redes neurais e índices estatísticos de ordem superior provenientes da teoria da informação serão utilizados (informação mútua, divergências) sobre os dados do projeto.

Engenharia de Software: Os sistemas computacionais serão desenvolvidos para informatizar o processo de coleta, armazenamento, acesso e análise dos dados, além de apoiar todo o processo operacional do projeto. O software será integrado à rede neural de forma a apresentar o score. O sistema também permitirá a exportação do repositório para outros programas estatísticos e diferentes formatos, garantindo a compatibilidade com vários aplicativos.

Impactos potenciais

Técnicos:

Desenvolvimento de um processo multidagnóstico de identificação de animais positivos TB em rebanhos infectados, com maior cobertura. Isto resultará na aceleração de processos de saneamento de propriedades infectadas.

Desenvolvimento de um software baseado em neural artificial, desenhado para dispositivo móvel on line e off line. O mesmo irá orientar a tomada de decisões em relação aos métodos diagnósticos e identificação de animais infectados, com capacidade de retroalimentação a campo.

Ampliação do banco de genótipos de isolados brasileiros de *M. bovis*, o que resultará em conhecimentos ainda pouco explorados sobre a

relação entre genótipos e resposta no diagnóstico imune humoral e celular e patologia.

Montagem de um banco de espectros de massas referência para isolados brasileiros de *M. bovis*.

Comerciais:

Como as ferramentas desenvolvidas no projeto terão impacto direto na aceleração da certificação de propriedades livres de tuberculose, isso trará vantagens competitivas nos mercados internos, por meio da agregação de valor aos produtos destas propriedades; e nos mercados externos, garantindo a qualidade sanidade do rebanho, necessárias à exportação.

Sociais:

Espera-se impacto na renda dos produtores rurais, em diversos níveis produtivos, desde produtores familiares até grandes empreendedores rurais, resultantes dos incrementos comerciais descritos.

Sanitários:

Redução de casos de tuberculose bovina e conseqüentemente de sua passível transmissão a humanos, ou outros animais.

Formação de recursos humanos:

Os pesquisadores do projeto, em sua maioria, são professores de cursos de graduação e pós-graduação. As atividades do projeto envolverão alunos em diversos níveis, contribuindo para a formação de recursos humanos nas áreas de imunologia, biologia molecular, epidemiologia e microbiologia, redes neurais, e automação (perspectiva multidisciplinar).

Institucionais:

A coordenação de projeto desta natureza pela Embrapa Gado de Corte contempla uma das missões da Empresa, que é de fornecer subsídios para os programas de controle de enfermidades do MAPA.

Envolvimento do setor privado

A Embrapa está em fase de negociação do ELISA com antígeno quimérico, desenvolvido na Embrapa Gado de Corte, com a empresa americana Ellie Lab.

<http://ellielab.com/>

10437 Innovation Drive
Wauwatosa, WI 53226, U.S.A.

Medidas de segurança ambiental, biológica e pessoal

A coleta das amostras biológicas se dará, em sua maior parte, em abatedouros frigoríficos oficiais, por médicos veterinários do serviço oficial, que já trabalham na equipe. Esses técnicos usarão máscaras PFF2, óculos de proteção, luvas e jaleco para coleta. As amostras serão acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificados, os quais serão colocados em recipientes de plástico duro e com tampa. Estes recipientes plásticos serão acondicionados em caixas de isopor com gelo reciclável, e estes, em caixas UN3373, devidamente identificadas, dos Serviços Oficiais de cada Estado de origem, atendendo a legislação de transporte (Instrução de embalagem 650 - IATA) para este tipo de amostra.

A manipulação de *Mycobacterium bovis* viável ou material potencialmente contaminado será feita exclusivamente em capelas de biossegurança nível 3, em laboratório de biossegurança nível 2. Os técnicos usarão luvas descartáveis, jaleco de mangas compridas, máscara PFF2, óculos de proteção, gorro e sapatos para laboratório.

O material potencialmente contaminado será autoclavado dentro do laboratório antes de seu descarte. Após o descarte, será recolhido como lixo hospitalar, por empresa terceirizada.

Os laboratórios onde houver manipulação de *M. bovis* terão contratos de manutenção das capelas de biossegurança e de controle de insetos e roedores.

As atividades que dependem da produção de proteínas recombinantes serão feitas em laboratório de biossegurança nível 2, com Certificado de Qualidade em Biossegurança concedido pela CTNBio e autorização para a atividade na CNTBio (anexos).

Riscos e dificuldades

Os riscos estão principalmente relacionados à obtenção do número planejado de propriedades com bovinos infectados em Mato Grosso do Sul, uma vez que a prevalência de tuberculose bovina neste Estado é baixa. Além disso, teremos dificuldade de abater animais negativos ao teste intradérmico e positivos ao ELISA. Na medida do possível, tentaremos detectar *M. bovis* no leite destes animais, para obter uma evidência ante-mortem a mais da infecção, que justifique o abate sanitário.

Claro que dependeremos de médicos veterinários habilitados para localização dos rebanhos infectados, porém como a rede deste projeto já trabalha com profissionais há algum tempo, podemos afirmar que esta será uma dificuldade menor.

Outros projetos e financiamentos

Abordagem multidagnóstica para a detecção da tuberculose bovina.

Coordenador: Flávio Ribeiro de Araújo

Edital: Apoio a Projetos de Pesquisa / MCTI/CNPQ/Universal 14/2014.

Processo: 443235/2014-7.

Valor aprovado: R\$ 118.905,60

Lista de Anexos

Identificação ↕	Nome do Arquivo ↕	Operação
Parecer técnico CTNBio	ParecerTecnicoProjetosFlabio.pdf	Visualizar
Termo de concessão CNPq	termosDeConcessao.pdf	Visualizar

Identificação ↕	Nome do Arquivo ↕	Operação
Comentários ao parecer	Comentários ao parecer.pdf	Visualizar
Parecer CTI CNPGL	Parecer CTI_participação em projeto_MRSilva.pdf	Visualizar
Estratégia de ação	Estratégia de ação MP2.pdf	Visualizar

Plano de Ação e Atividades

Plano de Ação: Plano Gerencial

Código PA: 02.13.10.008.00.01

Descrição: Plano composto por atividades gerenciais, que visam acompanhar o andamento do projeto, identificando possíveis dificuldades, e propondo alternativas para o êxito de seus objetivos.

Data de Início: 01/05/2016

Duração(meses): 36

Data término: 30/04/2019

Responsável: FLABIO RIBEIRO ARAUJO

Instituição: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte

Orçamento Custeio:

Ano	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%
2016	10.208,55	33	0,00	0	0,00	0
2017	10.208,55	33	0,00	0	0,00	0
2018	10.208,55	33	0,00	0	0,00	0
Total:	30.625,65		0,00		0,00	

Orçamento Investimento:

Ano	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%
Total:	0,00		0,00		0,00	

Atividades:

Atividade: Gestão técnica do projeto

Código Ativ.: 02.13.10.008.00.01.001

Descrição: Serão realizadas quatro reuniões presenciais entre os responsáveis por planos de ação, para planejamento (discussões de detalhes metodológicos e padronização da metodologia), acompanhamento e avaliação de resultados obtidos no projeto. Estas reuniões serão realizadas no início do projeto, e ao final do primeiro, segundo e terceiro ano. Nestas reuniões, serão identificados gargalos à execução das atividades, e propostas alternativas para contornar as dificuldades. Também serão discutidas e avaliadas ações de proteção e transferência tecnológica e planejamento de publicações. O acompanhamento será também feito a cada quadrimestre, por meio da ferramenta SISGP. Serão realizadas video-conferências semestrais ordinárias, e extra-ordinárias quando necessárias, com vista a acompanhar as atividades do projeto, junto aos responsáveis por planos de ação e demais componentes do projeto.

Data de Início: 01/05/2016

Duração(meses): 36

Data término: 30/04/2019

Responsável: FLABIO RIBEIRO ARAUJO

Instituição: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte

Colaboradores:

Nome	Unidade
------	---------

Orçamento:

Item de Despesa	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Taxa Administrativa	3.994,65	13	0,00	0	0,00	0	3.994,65	13
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	16.800,00	55	0,00	0	0,00	0	16.800,00	55
Material de consumo	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Passagens	9.831,00	32	0,00	0	0,00	0	9.831,00	32
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0

Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total	30.625,65	100	0,00	0	0,00	0	30.625,65	

Atividade: Gestão administrativa do projeto

Código Ativ.: 02.13.10.008.00.01.002

Descrição: Atividades de distribuição de recursos, elaboração de pedidos de compras, acompanhamento dos pregões eletrônicos, recebimento de produtos e equipamentos, mapeamento de uso de equipamento e treinamento de seu uso, e certificação de sua qualidade, controle de estoques,

Data de Início: 01/05/2016

Duração(meses): 36

Data término: 30/04/2019

Responsável: GISELE OLIVAS DE CAMPOS LEGUIZAMON

Instituição: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte

Colaboradores:

Nome	Unidade
------	---------

Orçamento:

Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Taxa Administrativa	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Material de consumo	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Passagens	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	

Plano de Ação: Avaliação de métodos post-mortem para detecção da infecção por Mycobacterium bovis

Código PA: 02.13.10.008.00.02

Descrição: Avaliação de métodos post-mortem para detecção da infecção por Mycobacterium bovis

Data de Início: 01/01/2017

Duração(meses): 26

Data término: 28/02/2019

Responsável: FLABIO RIBEIRO ARAUJO

Instituição: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte

Orçamento Custeio:

Ano	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%
2017	46.974,40	100	10.905,60	100	0,00	0
Total:	46.974,40		10.905,60		0,00	

Orçamento Investimento:

Ano	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%
Total:	0,00		0,00		0,00	

Atividades:

Atividade: Detecção de Mycobacterium bovis em tecidos por meio de imunohistoquímica

Código Ativ.: 02.13.10.008.00.02.001

Descrição: Detecção de Mycobacterium bovis em tecidos de bovinos provenientes de propriedades com foco de tuberculose bovina, por meio de imunohistoquímica

Data de Início: 01/01/2017

Duração(meses): 22

Data término: 31/10/2018

Responsável: CLAUDIO SEVERO LOMBARDO DE BARROS

Instituição: Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Colaboradores:

Nome	Unidade
------	---------

Orçamento:

Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Taxa Administrativa	6.127,10	13	0,00	0	0,00	0	6.127,10	11
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Material de consumo	40.847,30	87	10.905,60	100	0,00	0	51.752,90	89
Passagens	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total	46.974,40	81	10.905,60	19	0,00	0	57.880,00	

Atividade: Detecção de Mycobacterium bovis em tecidos por meio de cultivo celular**Código Ativ.:** 02.13.10.008.00.02.002**Descrição:** Detecção de Mycobacterium bovis em tecidos de bovinos provenientes de propriedades com foco de tuberculose bovina, por meio de cultivo celular**Data de Início:** 01/01/2017**Duração(meses):** 22**Data término:** 31/10/2018**Responsável:** Klaúdia dos Santos Gonçalves Jorge**Instituição:** Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul**Colaboradores:**

Nome	Unidade
------	---------

Orçamento:

Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Taxa Administrativa	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Material de consumo	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Passagens	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	

Atividade: Detecção de Mycobacterium bovis em tecidos por meio de nested-PCR**Código Ativ.:** 02.13.10.008.00.02.003**Descrição:** Detecção de Mycobacterium bovis em tecidos de bovinos provenientes de propriedades com foco de tuberculose bovina, por meio de nested-PCR**Data de Início:** 01/01/2017**Duração(meses):** 22**Data término:** 31/10/2018**Responsável:** FLABIO RIBEIRO ARAUJO**Instituição:** Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte**Colaboradores:**

Nome	Unidade
------	---------

Orçamento:

Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Taxa Administrativa	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0

Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Diárias	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Material de consumo	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Passagens	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0

Atividade: Identificação de Mycobacterium bovis em cultivo por espectrometria de massas
Código Ativ.: 02.13.10.008.00.02.004
Descrição: Análise de colônias de Mycobacterium bovis por espectrometria de massas, MALDI-TOF.
Data de Início: 01/01/2017
Duração(meses): 22
Data término: 31/10/2018
Responsável: NEWTON VALERIO VERBISCK
Instituição: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte
Colaboradores:

Nome	Unidade
------	---------

Orçamento:

Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Taxa Administrativa	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Material de consumo	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Passagens	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0

Plano de Ação: Avaliação de métodos ante-mortem para detecção da infecção por Mycobacterium bovis

Código PA: 02.13.10.008.00.03

Descrição: Detecção ante-mortem de Mycobacterium bovis bovinos procedentes de propriedades com foco de tuberculose, por meio provas sorológicas, celulares e moleculares. Avaliação da cobertura diagnóstica conferida pelos testes, quando comparada com a preconização diagnóstica do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal do MAPA.

Data de Início: 01/09/2016

Duração(meses): 32

Data término: 30/04/2019

Responsável: LENITA RAMIRES DOS SANTOS

Instituição: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte

Orçamento Custeio:

Ano	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%
2016	90.376,20	86	25.000,00	100	0,00	0
2017	15.211,05	14	0,00	0	0,00	0
Total:	105.587,25		25.000,00		0,00	

Orçamento Investimento:

Ano	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%
2016	3.787,00	100	0,00	0	0,00	0
Total:	3.787,00		0,00		0,00	

Atividades:

Atividade: Identificação de propriedades rurais com focos de tuberculose bovina mediante o teste cervical comparativo

Código Ativ.: 02.13.10.008.00.03.001

Descrição: Identificação de focos de tuberculose bovina mediante o teste cervical comparativo, em fazendas no Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul. Serão analisados todos os animais acima de 6 meses, em 25 propriedades de cada estado.

Data de Início: 01/09/2016

Duração(meses): 12

Data término: 31/08/2017

Responsável: FLABIO RIBEIRO ARAUJO

Instituição: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte

Colaboradores:

Nome	Unidade
Adriana Krusser Rossi	CIDASC
Karina Diniz Baumgarten	CIDASC

Orçamento:

Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Taxa Administrativa	13.772,25	13	0,00	0	0,00	0	13.772,25	11
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	19.200,00	18	0,00	0	0,00	0	19.200,00	15
Material de consumo	31.615,00	30	15.000,00	60	0,00	0	46.615,00	36
Passagens	16.000,00	15	0,00	0	0,00	0	16.000,00	12
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	25.000,00	24	10.000,00	40	0,00	0	35.000,00	27
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total	105.587,25	81	25.000,00	19	0,00	0	130.587,25	

Atividade: Avaliação sorológica de bovinos por ELISA com antígeno recombinante quimérico MPB70/MPB83/ESAT-6

Código Ativ.: 02.13.10.008.00.03.002

Descrição: Detecção de anticorpos contra Mycobacterium bovis em bovinos de propriedades com focos de tuberculose bovina, por meio de ELISA com antígeno recombinante quimérico MPB70/MPB83/ESAT-6.

Data de Início: 01/09/2016

Duração(meses): 32

Data término: 30/04/2019

Responsável: LENITA RAMIRES DOS SANTOS

Instituição: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte

Colaboradores:

Nome	Unidade
------	---------

Orçamento:

Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Taxa Administrativa	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Material de consumo	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Passagens	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	

Detecção de Mycobacterium bovis na excreção nasal e leite de vacas em rebanhos

Atividade: infectados, mediante nested-PCR e cultivo

Código Ativ.: 02.13.10.008.00.03.003

Descrição: Avaliação da detecção de M. bovis na excreção nasal e leite de vacas em rebanhos infectados, mediante nested-PCR e cultivo

Data de Início: 01/09/2016

Duração(meses): 32

Data término: 30/04/2019

Responsável: FLABIO RIBEIRO ARAUJO

Instituição: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte

Colaboradores:

Nome	Unidade
------	---------

Orçamento:

Item de Dispendio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Taxa Administrativa	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Material de consumo	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Passagens	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0

Plano de Ação: Genotipagem de isolados de Mycobacterium bovis

Código PA: 02.13.10.008.00.04

Descrição: Genotipagem de isolados de Mycobacterium bovis, por meio de técnicas tradicionais (Spoligotyping, MIRU) ou sequenciamento genômico

Data de Início: 01/02/2017

Duração(meses): 24

Data término: 31/01/2019

Responsável: Martín José Zumárraga

Instituição: Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária (Argentina)

Orçamento Custeio:

Ano	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%
2017	39.606,00	100	0,00	0	0,00	0
Total:	39.606,00		0,00		0,00	

Orçamento Investimento:

Ano	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%
Total:	0,00		0,00		0,00	

Atividades:

Atividade: Genotipagem de isolados de Mycobacterium bovis por MIRU e spoligotyping

Código Ativ.: 02.13.10.008.00.04.001

Descrição: Genotipagem pelas técnicas tradicionais de MIRU e spoligotyping de isolados de Mycobacterium bovis obtidos de propriedades com foco de tuberculose bovina

Data de Início: 01/02/2017

Duração(meses): 24

Data término: 31/01/2019

Responsável: Martín José Zumárraga

Instituição: Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária (Argentina)

Colaboradores:

Nome	Unidade
------	---------

Orçamento:

Item de Dispendio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Taxa Administrativa	5.166,00	13	0,00	0	0,00	0	5.166,00	13

Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	8.640,00	22	0,00	0	0,00	0	8.640,00	22
Material de consumo	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Passagens	3.800,00	10	0,00	0	0,00	0	3.800,00	10
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	22.000,00	56	0,00	0	0,00	0	22.000,00	56
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total	39.606,00	100	0,00	0	0,00	0	39.606,00	

Atividade: Genotipagem de isolados de Mycobacterium bovis por sequenciamento genômico
Código Ativ.: 02.13.10.008.00.04.002
Descrição: Genotipagem por sequenciamento genômico de isolados de Mycobacterium bovis obtidos de propriedades com foco de tuberculose bovina
Data de Início: 01/02/2017
Duração(meses): 24
Data término: 31/01/2019
Responsável: Nalvo Franco de Almeida Júnior
Instituição: Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Colaboradores:

Nome	Unidade
------	---------

Orçamento:

Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Taxa Administrativa	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Material de consumo	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Passagens	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	

Plano de Ação: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida pelos diferentes métodos

Código PA: 02.13.10.008.00.05

Descrição: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida pelos diferentes métodos, elaboração de recomendações ao MAPA e desenvolvimento de software de apoio à tomada de decisões diagnósticas

Data de Início: 01/05/2016

Duração(meses): 36

Data término: 30/04/2019

Responsável: NEWTON VALERIO VERBISCK

Instituição: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte

Orçamento Custeio:

Ano	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%
2016	6.847,10	33	0,00	0	0,00	0
2017	6.847,10	33	0,00	0	0,00	0
2018	6.847,10	33	0,00	0	0,00	0
Total:	20.541,30		0,00		0,00	

Orçamento Investimento:

Ano	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%
-----	-----	---	-------------------------	---	---------------------	---

2016	4.587,45	100	0,00	0	0,00	0
Total:	4.587,45		0,00		0,00	

Atividades:

Atividade: Desenvolvimento de software baseado para tomada de decisões de diagnóstico da tuberculose bovina

Código Ativ.: 02.13.10.008.00.05.001

Descrição: Desenvolvimento de um software baseado em rede neural artificial para tomada de decisões que oriente a escolha das provas diagnósticas e as medidas de controle da tuberculose bovina

Data de Início: 01/05/2016

Duração(meses): 36

Data término: 30/04/2019

Responsável: Jose Manoel de Seixas

Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro

Colaboradores:

Nome	Unidade
------	---------

Orçamento:

Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Taxa Administrativa	2.679,30	13	0,00	0	0,00	0	2.679,30	13
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	9.600,00	47	0,00	0	0,00	0	9.600,00	47
Material de consumo	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Passagens	8.262,00	40	0,00	0	0,00	0	8.262,00	40
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total	20.541,30	100	0,00	0	0,00	0	20.541,30	

Atividade: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida por diferentes testes

Código Ativ.: 02.13.10.008.00.05.002

Descrição: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida por diferentes testes, e elaboração de recomendação para o PNCEBT-MAPA.

Data de Início: 01/05/2016

Duração(meses): 36

Data término: 30/04/2019

Responsável: FLABIO RIBEIRO ARAUJO

Instituição: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte

Colaboradores:

Nome	Unidade
------	---------

Orçamento:

Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Taxa Administrativa	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Material de consumo	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Passagens	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	

Questionários

Questionário: Aspectos Regulatórios

Instruções
Questionário:

1. Acesso ao Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado: A Medida Provisória nº. 2.186-16 e suas regulamentações alcançam todas as atividades de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico realizadas mediante a utilização de amostras de patrimônio genético coletados em condições in situ, inclusive domesticado, ou mantido em coleções ex situ, desde que tenham sido coletados no território nacional, na plataforma continental ou na zona econômica exclusiva. Ou seja, aplica-se a todas as atividades envolvendo acesso ao patrimônio genético NATIVO, de origem animal, vegetal e microbiano, independentemente da data da coleta das amostras. Todo os microrganismos originalmente coletados no país são considerados nativos pela referida legislação. Por Conhecimento Tradicional Associado entende-se informação ou prática individual ou coletiva de comunidade indígena ou de comunidade local, com valor real ou potencial, associada ao patrimônio genético - (Inc. II do Art. 7º da M. P. nº 2.186-16, de 2001). 2. Biossegurança: A Lei nº. 11.105 (Lei de Biossegurança) e suas regulamentações estabelecem normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam Organismos Geneticamente Modificados – OGMs, bem como dão outras providências.

Pergunta 1

Instruções:

A execução do presente projeto envolve a utilização de patrimônio genético nativo ou de conhecimento tradicional associado?::

Não Sim, Conhecimento Tradicional Associado Sim, Patrimônio Genético Sim, ambos

Pergunta 2

Instruções:

A execução do presente projeto envolve a utilização/geração de Organismo Geneticamente Modificado – OGM?:

Não Sim

Questionário: Aspectos de Propriedade Intelectual

Instruções do Questionário: Responda de forma objetiva e clara as questões relacionadas a propriedade intelectual.

Pergunta 1

Instruções:

RESULTADOS ESTIMADOS DO PROJETO: estimar se há resultados técnicos (tecnologias) previstos passíveis de proteção intelectual.:

Sim. O software baseado em redes neurais pode ter registro solicitado. Em princípio, a UFRJ seria detentora do registro, com participação do líder do projeto, o qual fornecerá dados para avaliação do programa. Não foi feita ainda discussão sobre participação na titularidade. O ELISA com proteína quimérica está com pedido de patente solicitado no Brasil. No exterior, a Embrapa não solicitou em tempo hábil. A nested-PCR foi considerada tecnologia não patenteável, pela SNT.

Pergunta 2

Instruções:

LEVANTAMENTOS DE BASE AO PROJETO: especificar a realização de buscas preliminares de anterioridades e análises comparativas tecnológicas.:

Já foram feitas, durante o levantamento de patenteabilidade do ELISA e Nested-PCR.

Pergunta 3

Instruções:

COMPONENTES TECNOLÓGICOS DE TERCEIROS: estimar a necessidade da realização de estudo relativo ao uso de produtos e métodos/processos tecnológicos de propriedade intelectual de terceiros previstos na obtenção dos resultados do projeto.:

Não

Pergunta 4

Instruções:

NEGOCIAÇÃO PRELIMINAR: especificar a negociação preliminar efetuada no que tange à participação dos parceiros (se houver) sobre a apropriação (titularidade e/ou participação na exploração comercial/econômica) dos resultados estimados do projeto.:

A Ellie Lab está em negociação com a Embrapa para comercialização do ELISA

Quadro de Desembolso - Custeio

Ano	Valor
2016	107.431,85
2017	118.847,10
2018	17.055,65
Total:	243.334,60

Quadro de Desembolso - Investimento

Ano	Valor
2016	8.374,45
Total:	8.374,45

Resumo de Orçamento – SEG

Ano/PA/Atividade	Custeio	%	Investimento	%
2016				
PA: Plano Gerencial			0,00	
Atv: Gestão técnica do projeto	10.208,55	100		
Atv: Gestão administrativa do projeto	0,00	0		
Total do PA	10.208,55	10	0,00	0
PA: Avaliação de métodos ante-mortem para detecção da infecção por Mycobacterium bovis			3.787,00	
Atv: Identificação de propriedades rurais com focos de tuberculose bovina mediante o teste cervical comparativo	90.376,20	100		
Atv: Avaliação sorológica de bovinos por ELISA com antígeno recombinante quimérico MPB70/MPB83/ESAT-6	0,00	0		
Atv: Detecção de Mycobacterium bovis na excreção nasal e leite de vacas em rebanhos infectados, mediante nested-PCR e cultivo	0,00	0		
Total do PA	90.376,20	84	3.787,00	45
PA: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida pelos diferentes métodos			4.587,45	
Atv: Desenvolvimento de software baseado para tomada de decisões de diagnóstico da tuberculose bovina	6.847,10	100		
Atv: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida por diferentes testes	0,00	0		
Total do PA	6.847,10	6	4.587,45	55
Total de 2016	107.431,85	44	8.374,45	100
2017				
PA: Plano Gerencial			0,00	
Atv: Gestão técnica do projeto	10.208,55	100		
Atv: Gestão administrativa do projeto	0,00	0		
Total do PA	10.208,55	9	0,00	0
PA: Avaliação de métodos post-mortem para detecção da infecção por Mycobacterium bovis			0,00	
Atv: Detecção de Mycobacterium bovis em tecidos por meio de imunohistoquímica	46.974,40	100		
Atv: Detecção de Mycobacterium bovis em tecidos por meio de cultivo celular	0,00	0		

Ano/PA/Atividade	Custeio	%	Investimento	%
Atv: Detecção de Mycobacterium bovis em tecidos por meio de nested-PCR	0,00	0		
Atv: Identificação de Mycobacterium bovis em cultivo por espectrometria de massas	0,00	0		
Total do PA	46.974,40	40	0,00	0
PA: Avaliação de métodos ante-mortem para detecção da infecção por Mycobacterium bovis			0,00	
Atv: Identificação de propriedades rurais com focos de tuberculose bovina mediante o teste cervical comparativo	15.211,05	100		
Atv: Avaliação sorológica de bovinos por ELISA com antígeno recombinante quimérico MPB70/MPB83/ESAT-6	0,00	0		
Atv: Detecção de Mycobacterium bovis na excreção nasal e leite de vacas em rebanhos infectados, mediante nested-PCR e cultivo	0,00	0		
Total do PA	15.211,05	13	0,00	0
PA: Genotipagem de isolados de Mycobacterium bovis			0,00	
Atv: Genotipagem de isolados de Mycobacterium bovis por MIRU e spoligotyping	39.606,00	100		
Atv: Genotipagem de isolados de Mycobacterium bovis por sequenciamento genômico	0,00	0		
Total do PA	39.606,00	33	0,00	0
PA: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida pelos diferentes métodos			0,00	
Atv: Desenvolvimento de software baseado para tomada de decisões de diagnóstico da tuberculose bovina	6.847,10	100		
Atv: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida por diferentes testes	0,00	0		
Total do PA	6.847,10	6	0,00	0
Total de 2017	118.847,10	49	0,00	0
2018				
PA: Plano Gerencial			0,00	
Atv: Gestão técnica do projeto	10.208,55	100		
Atv: Gestão administrativa do projeto	0,00	0		
Total do PA	10.208,55	60	0,00	0
PA: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida pelos diferentes métodos			0,00	
Atv: Desenvolvimento de software baseado para tomada de decisões de diagnóstico da tuberculose bovina	6.847,10	100		
Atv: Avaliação da cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, fornecida por diferentes testes	0,00	0		
Total do PA	6.847,10	40	0,00	0
Total de 2018	17.055,65	7	0,00	0
Total	243.334,60	97	8.374,45	3

Resumo de Orçamento – Captação não financeira

Ano/PA/Atividade	Custeio	%	Investimento	%
2016				
Avaliação de métodos ante-mortem para detecção da infecção por Mycobacterium bovis			0,00	
>> Identificação de propriedades rurais com focos de tuberculose bovina mediante o teste cervical comparativo	25.000,00	100		
>> Avaliação sorológica de bovinos por ELISA com antígeno recombinante quimérico MPB70/MPB83/ESAT-6	0,00	0		
>> Detecção de Mycobacterium bovis na excreção nasal e leite de vacas em rebanhos infectados, mediante nested-PCR e cultivo	0,00	0		
Total do PA	25.000,00	100	0,00	0
Total de 2016	25.000,00	70	0,00	0
2017				
Avaliação de métodos post-mortem para detecção da infecção por Mycobacterium bovis			0,00	

Ano/PA/Atividade	Custeio	%	Investimento	%
>> Detecção de Mycobacterium bovis em tecidos por meio de imunohistoquímica	10.905,60	100		
>> Detecção de Mycobacterium bovis em tecidos por meio de cultivo celular	0,00	0		
>> Detecção de Mycobacterium bovis em tecidos por meio de nested-PCR	0,00	0		
>> Identificação de Mycobacterium bovis em cultivo por espectrometria de massas	0,00	0		
Total do PA	10.905,60	100	0,00	0
Total de 2017	10.905,60	30	0,00	0
Total	35.905,60	100	0,00	0

Resumo de Orçamento – Captação financeira

Ano/PA/Atividade	Custeio	%	Investimento	%
Total	0,00	0	0,00	0

Orçamento - Detalhamento por Item de Dispêndio (Custeio)

Ano/Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
2016								
Taxa Administrativa	14.012,85	100	0,00	0	0,00	0	14.012,85	11
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	28.000,00	100	0,00	0	0,00	0	28.000,00	21
Material de consumo	18.388,00	55	15.000,00	45	0,00	0	33.388,00	25
Passagens	22.031,00	100	0,00	0	0,00	0	22.031,00	17
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	25.000,00	71	10.000,00	29	0,00	0	35.000,00	26
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total de 2016:	107.431,85	81	25.000,00	19	0,00	0	132.431,85	47
2017								
Taxa Administrativa	15.501,80	100	0,00	0	0,00	0	15.501,80	12
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	17.440,00	100	0,00	0	0,00	0	17.440,00	13
Material de consumo	54.074,30	83	10.905,60	17	0,00	0	64.979,90	50
Passagens	9.831,00	100	0,00	0	0,00	0	9.831,00	8
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	22.000,00	100	0,00	0	0,00	0	22.000,00	17
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total de 2017:	118.847,10	92	10.905,60	8	0,00	0	129.752,70	46
2018								
Taxa Administrativa	2.224,65	100	0,00	0	0,00	0	2.224,65	13
Consultoria especializada	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Diárias	8.800,00	100	0,00	0	0,00	0	8.800,00	52
Material de consumo	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Passagens	6.031,00	100	0,00	0	0,00	0	6.031,00	35
Serviços de terceiros (pessoa física)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Serviços de terceiros (pessoa jurídica)	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total de 2018:	17.055,65	100	0,00	0	0,00	0	17.055,65	6

Ano/Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
Total	243.334,60	87	35.905,60	13	0,00	0	279.240,20	

Orçamento - Detalhamento por Item de Dispêndio (Investimento)

Ano/Item de Dispêndio	SEG	%	Captação não Financeira	%	Captação Financeira	%	Total	%
2016								
Equipamentos/Material permanente/Bens	8.374,45	100	0,00	0	0,00	0	8.374,45	100
Obras civis	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Adaptação-Orçamento	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Total de 2016:	8.374,45	100	0,00	0	0,00	0	8.374,45	100
Total	8.374,45	100	0,00	0	0,00	0	8.374,45	

Carta de Encaminhamento

Linha do Tempo

+ Zoom

- Zoom

← Esquerda

Direita →

📅 Dia Atual

📅 Mês Atual

< Voltar

Legenda

Planos de Ação

Atividades

	2017	2018	2019
02.13.10.008.00.01 - Plano Gerencial			
02.13.10.008.00.01.001 - Gestão técnica do projeto			
02.13.10.008.00.01.002 - Gestão administrativa do projeto			
02.13.10.008.00.02 - Avaliação de métodos post-mortem para detecção da			
02.13.10.008.00.02.001 - Detecção de Mycobacterium bovis em			
02.13.10.008.00.02.002 - Detecção de Mycobacterium bovis em			
02.13.10.008.00.02.003 - Detecção de Mycobacterium bovis em			
02.13.10.008.00.02.004 - Identificação de Mycobacterium bovis			
02.13.10.008.00.03 - Avaliação de métodos ante-mortem para detecção da infecção por Myc			

