

V- Os mapas de produção das embarcações da modalidade emalhe anilhado que foram autorizadas na temporada da tainha correspondente ao ano de 2020 (período de 15 de maio a 31 de julho de 2020), serão consultados pela Secretaria de Aquicultura e Pesca do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - SAP/MAPA, no SISTAINHA.

VI- No ato da inscrição o interessado deverá preencher o Formulário específico disponibilizado no sítio eletrônico: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/aquicultura-e-pesca/pesca/tainha>, devidamente preenchido, assinado e legível pelo proprietário da embarcação, ou caso seja assinado pelo representante legal, deverá juntar obrigatoriamente a procuração assinada, com firma reconhecida, anexando à procuração, também, o documento de identificação do representante legal.

VII- O interessado deverá apresentar a Cópia do Documento Oficial de Identidade e do Cadastro de Pessoa Física - CPF legíveis do proprietário da embarcação ou de seu representante legal.

VIII- O interessado deverá apresentar o comprovante de residência atual, emitido há, no máximo, três meses, do proprietário da embarcação ou de seu representante legal. Caso o comprovante de residência esteja de terceiro, será necessário o preenchimento da Autodeclaração de Residência, conforme modelo exposto no Anexo I, bem como a anexação da cópia do comprovante de residência atual no mesmo endereço citado em nome de terceiro, ambos legíveis.

IX- O interessado deverá apresentar a Cópia do Título de Inscrição de Embarcação - TIE válido e legível.

X- O interessado deverá apresentar o Registro de Autorização de Embarcação Pesqueira - RAEP válido e com autorização específica para a modalidade de emalhe anilhado costeiro de superfície ou emalhe costeiro de fundo nas modalidades com os códigos de frotas 2.02.001; e 2.04.001.

XI- O interessado deverá apresentar o Comprovante do Cadastro Técnico Federal - CTF válido e legível.

Todos os documentos deverão ser digitalizados em formato PDF, em documento único para cada item, com tamanho máximo de 5 MB.

Em caso de problemas durante a inscrição, o interessado deverá entrar em contato pelo e-mail: safratinha.sap@agricultura.gov.br ou pelo telefone (61) 3276 - 4423. Todavia, não será permitido o encaminhamento da documentação via e-mail.

6. DO SORTEIO

6.1. Caso seja verificado que o número de vagas disponíveis por modalidade para a temporada de pesca da tainha (Mugil liza) de 2021 seja inferior ao número de embarcações habilitadas, far-se-á um sorteio.

6.2. O sorteio será realizado pela Secretaria de Aquicultura e Pesca do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - SAP/MAPA, devendo-se garantir a transparência e a publicidade dos atos, assim como a igualdade de participação dos habilitados.

6.3. A Secretaria de Aquicultura e Pesca do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - SAP/MAPA publicará ato administrativo específico com a data, local e as regras de execução do sorteio.

6.4. O sorteio será realizado por modalidade, sendo que todas as embarcações habilitadas participarão do sorteio em sua modalidade, e será feita uma lista de classificação conforme a ordem do sorteio.

6.5. As embarcações classificadas serão credenciadas até o número disponível de vagas por modalidade, a ser definido pela Secretaria de Aquicultura e Pesca do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - SAP/MAPA.

6.6. Caso haja alguma desistência ou impedimento legal de uma embarcação credenciada, a vaga será disponibilizada para a embarcação subsequente conforme ordem de classificação do sorteio.

7. DO RECURSO

7.1. Aos interessados é assegurado o direito de interposição de Recurso dirigido à Secretaria de Aquicultura e Pesca do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - SAP/MAPA, no prazo descrito no item 3.1.4 deste Edital, o qual será recebido e processado nos termos deste Edital.

7.2. O interessado deverá encaminhar o recurso para o e-mail safratinha.sap@agricultura.gov.br

7.3. Os recursos deverão ser interpostos por escrito, contendo as razões de fato e de direito com as quais deseja impugnar a decisão proferida, assim como devem ser acostados documentos que constam no item 5 deste Edital e subscrita pelo interessado.

7.4. Os recursos interpostos fora do prazo não serão reconhecidos.

7.5. Após o recebimento e conhecimento de eventuais recursos, a Secretaria de Aquicultura e Pesca do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - SAP/MAPA, irá analisar cada caso e julgar os recursos no prazo estabelecido no item 3.1.5.

8. DA IMPUGNAÇÃO DO EDITAL

8.1. Qualquer interessado poderá solicitar esclarecimentos, providências ou impugnar o Edital, mediante petição escrita e fundamentada, encaminhada para o e-mail safratinha.sap@agricultura.gov.br

8.2. Os pedidos de esclarecimentos, providências ou impugnações poderão ser formalizados em até 5 (cinco) dias úteis, contados da publicação do presente Edital no Diário Oficial da União - DOU.

8.3. Caberá à Secretaria de Aquicultura e Pesca do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - SAP/MAPA decidir sobre a petição no prazo de até 48 (quarenta e oito) horas, contadas do recebimento do e-mail com o recurso.

8.4. Acolhida a impugnação ao ato convocatório, será designada nova data para a retificação desse procedimento.

9. DAS DISPOSIÇÕES FINAIS

9.1. Trata o presente Edital de objeto de mera expectativa de direito futuro e precário aos selecionados, que estarão condicionados às cotas e os períodos de pesca a ser definidos em Ato Normativo específico, a ser expedido por esta Secretaria.

9.2. A participação dos interessados está condicionada ao atendimento dos critérios, procedimentos e prazos dispostos no presente Edital, sendo que o não cumprimento implicará na não habilitação e não credenciamento para a captura de Tainha (Mugil liza) na temporada de pesca do ano de 2021.

9.3. Em caso de desistência, o interessado deverá informar oficialmente à Secretaria de Aquicultura e Pesca do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - SAP/MAPA, via e-mail: safratinha.sap@agricultura.gov.br, antes da do início da temporada de pesca da tainha (Mugil liza) de 2021.

9.4. A Autorização de Pesca Especial Temporária irá conter obrigatoriamente: a modalidade de pesca para a qual a embarcação está autorizada, os dados de identificação da embarcação, as características físicas da embarcação, o período da autorização, a área de operação, a(s) espécie(s) permissionada (s) e os dados do responsável legal da embarcação.

9.5. A Autorização de Pesca Especial Temporária, objeto do presente Edital, será emitida pela Secretaria de Aquicultura e Pesca do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - SAP/MAPA e entregue ao responsável legal da embarcação pela Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento da Unidade da Federação constante no Certificado de Registro e Autorização de Embarcação Pesqueira - RAEP.

9.6. A Secretaria de Aquicultura e Pesca do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - SAP/MAPA não se responsabilizará pelo não recebimento de solicitação de inscrição via internet por motivos de ordem técnica dos computadores, falhas de comunicação, congestionamento das linhas de comunicação, bem como por outros fatores que impossibilitem a transferência de dados, estando o interessado totalmente responsável pela realização de sua inscrição, não sendo permitido o recebimento de inscrição ou documentação via e-mail e fora do prazo determinado.

9.7. A inscrição do interessado implicará aceitação total e incondicional das disposições deste Edital, avisos e atos complementares que virem a ser publicados, sendo que apenas poderá apresentar impugnação, no prazo estabelecido no item 3.1.1 deste Edital e, não o fazendo, considerar-se-ão aceitas todas as disposições editalícias.

9.8. Os casos omissos serão resolvidos pela Secretaria de Aquicultura e Pesca do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - SAP/MAPA.

9.9. Este Edital entra em vigor na data de sua publicação e terá vigência até a publicação definitiva das embarcações credenciadas.

MARCELO MOREIRA NEVES

ANEXO I - MODELO AUTODECLARAÇÃO DE RESIDÊNCIA

AUTODECLARAÇÃO DE RESIDÊNCIA

Eu _____ Documento de identidade _____ órgão exp. _____ CPF _____ nacionalidade _____ naturalidade _____ telefone (DDD e nº) _____ celular _____ e-mail _____ Na falta de documentos para comprovação de residência em meu próprio nome, DECLARO para os devidos fins, sob as penas da Lei, ser residente e domiciliado(a) no endereço: _____.

Declaro ainda, estar ciente de que a falsidade da presente declaração pode implicar na sanção penal prevista no Art. 299 do Código Penal, conforme transcrição abaixo: "Art. 299 - Omitir, em documento público ou particular, declaração que nele deveria constar, ou nele inserir ou fazer inserir Declaração falsa ou diversa da que devia ser escrita, com o fim de prejudicar direito, criar obrigação ou alterar a verdade sobre o fato juridicamente relevante.

Pena: reclusão de 1 (um) a 5 (cinco) anos e multa, se o documento é público e reclusão de 1 (um) a 3 (três) anos, se o documento é particular."

Obs.: Juntamente a esta declaração é obrigatório o envio de um comprovante de residência no mesmo endereço citado acima em nome de terceiros.

_____, ____ / ____ / ____

Assinatura do Requerente

(* Republicado por ter saído no Diário Oficial da União, de 04/01/2021, na edição 1, seção 3, página 2, com incorreção no original.

SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA

EXTRATO DE TERMO ADITIVO

Espécie: Termo Aditivo de Alteração da Vigência Nº 000002/2020 ao Convênio Nº 890660/2019. Convenientes: Concedente: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO, Unidade Gestora: 130088. Conveniente: INSTITUTO DE DEFESA AGROPECUARIA E FLORESTAL DO ESTADO DO ACRE, CNPJ nº 05509035000174. Solicitação de prorrogação de vigência de convênio 890660/2019 e disponibilização de recurso contingenciado na primeira proposta e acordado para esse pleito. OF/GAB/IDAF/ Nº 424 DE 28 DE OUTUBRO DE 20. Valor Total: R\$ 1.350.445,50, Valor de Contrapartida: R\$ 60.000,00, Vigência: 31/12/2020 a 31/12/2021. Data de Assinatura: 30/12/2019. Signatários: Concedente: JOSE GUILHERME TOLLSTADIUS LEAL, CPF nº 70231737653, Conveniente: JOSE FRANCISCO THUM, CPF nº 364.712.400-15.

EXTRATO DE TERMO ADITIVO

Espécie: Termo Aditivo de Alteração da Vigência/ Acréscimo Nº 000008/2020 ao Convênio Nº 817750/2015. Convenientes: Concedente: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO, Unidade Gestora: 130080. Conveniente: AGENCIA GOIANA DE DEFESA AGROPECUARIA, CNPJ nº 06064227000187. Constitui OBJETO do presente TERMO ADITIVO AO CONVÊNIO Nº 817750/2015/MAPA/SFA-GO/AGRODEFESA a prorrogação da vigência do convênio, alterando a Cláusula Nona- Do Prazo de Vigência, que passa a ter a s. Valor Total: R\$ 1.024.519,82, Valor de Contrapartida: R\$ 51.171,82, Vigência: 31/12/2020 a 31/12/2021. Data de Assinatura: 05/10/2015. Signatários: Concedente: JOSE GUILHERME TOLLSTADIUS LEAL, CPF nº 70231737653, Conveniente: JOSE ESSADO NETO, CPF nº 015.866.531-72.

EXTRATO DO TERMO DE EXECUÇÃO DESCENTRALIZADA

Processo nº 21000.072452/2020-15

Espécie: Termo de Execução Descentralizada MAPA/SDA nº 02/2020, que entre si celebram a União Federal, por intermédio do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, CNPJ nº 00.396.895/0001-25, através da Secretaria de Defesa Agropecuária -SDA e o Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte - EMBRAPA - Gado de Corte, CNP - CNPJ nº 00348003004612.

Objeto: Promover o destaque de recursos do MAPA/SDA à UG 135017, Gestão 13203, no valor de R\$ 1.649.099,77, no exercício de 2020, sendo nas Naturezas de Despesas: 3390.14 - R\$ 28.717,02; 3390.30 - R\$ 1.101.743,59; 3390.33 - R\$ 13.020,00 ; 3390.36 - R\$ 300.000,00 e no 3390.39 - R\$ 205.619,16, cujo objeto da despesa é: Ações de pesquisa para o avanço do diagnóstico de enfermidades ligadas a programas sanitários.

Assinaturas: 24 de dezembro de 2020.

Prazo de vigência: 24 meses contados a partir da data de sua assinatura

Signatários: pela Unidade Descentralizadora, José Guilherme Tollstadius Leal, CPF/MF nº 702.317.376-53, Secretário de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e pela Unidade Descentralizada: Luiz Orcirio Fialho de Oliveira - CPF/MF nº 424.613.836-34 - Chefe Geral da Embrapa Gado de Corte e Paulo Henrique Nogueira Biscola - CPF/MF nº 722.425.071-68 - Chefe de Administração da Embrapa Gado de Corte.

EXTRATO DE TERMO DE EXECUÇÃO DESCENTRALIZADA

Processo nº 21000.073492/2020-84

Espécie: Termo de Execução Descentralizada MAPA/SDA nº 03/2020, que entre si celebram a União Federal, por intermédio do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, CNPJ nº 00.396.895/0001-25, através da Secretaria de Defesa Agropecuária -SDA e o





MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

COORDENACAO-GERAL DE SANIDADE ANIMAL

Termo de Execução Descentralizada nº 02/2020 / 2020, 24 de dezembro de 2020

1. DADOS CADASTRAIS DA UNIDADE DESCENTRALIZADORA

1.1. Unidade Descentralizadora e Responsável

Nome do órgão ou entidade descentralizadora: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Nome da autoridade competente: José Guilherme Tollstadius Leal

Número do CPF: 702.317.376-53

Nome da Secretaria/Departamento/Unidade Responsável pelo acompanhamento da execução do objeto do TED: Secretaria de Defesa Agropecuária

Identificação do Ato que confere poderes para assinatura: Portaria nº 337, de 4 de novembro de 2020.

1.2. UG SIAFI

Número e Nome da Unidade Gestora - UG que descentralizará o crédito: UG: 130007 - Secretaria de Defesa Agropecuária-SDA/MAPA.

Número e Nome da Unidade Gestora responsável pelo acompanhamento da execução do objeto do TED: UG: 130007 - Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA/MAPA.

Observações:

1. Identificação da Unidade Descentralizadora e da autoridade competente para assinatura do TED; e

2. Preencher número da Unidade Gestora responsável pelo acompanhamento da execução do objeto do TED, no campo "b", apenas caso a Unidade Responsável pelo acompanhamento da execução tenha UG própria.

2. DADOS CADASTRAIS DA UNIDADE DESCENTRALIZADA

2.1. Unidade Descentralizada e Responsável

Nome do órgão ou entidade descentralizada: Razão Social: Centro Nacional de

Pesquisa de Gado de Corte. Nome Fantasia: Embrapa Gado de Corte. CNPJ:00348003004612. Inscrição Estadual: 28210307-4. UG SIAFI 135017. Código de Gestão: 13203.

Nome da autoridade competente: Luiz Orcirio Fialho de Oliveira

Número do CPF: 424.613.836-34

Nome da Secretaria/Departamento/Unidade Responsável pela execução do objeto do TED: Chefia Geral da Embrapa Gado de Corte.

Nome da autoridade competente: Paulo Henrique Nogueira Biscola

Número do CPF: 722.425.071-68

Nome da Secretaria/Departamento/Unidade Responsável pela execução do objeto do TED: Chefia de Administração da Embrapa Gado de Corte.

Identificação do Ato que confere poderes para assinatura:

O ato de delegação que confere ao chefe geral e Chefe Administrativo da Embrapa Gado de Corte a competência para assinatura do TED é a Portaria nº1046 e nº1047 de 26 de outubro de 2020, publicada no BCA 050/2020, associada a portaria de nomeação de ambos a Chefia Geral e Chefia de Administração.

2.2. UG SIAFI

Número e Nome da Unidade Gestora - UG que receberá o crédito: Embrapa Gado de Corte UG nº135017 e Código de Gestão nº13203.

Número e Nome da Unidade Gestora - UG responsável pela execução do objeto do

TED: Embrapa Gado de Corte UG nº135017 e Código de Gestão nº13203.

Observações:

1. Identificação da Unidade Descentralizada e da autoridade competente para assinatura do TED; e
2. Preencher número da Unidade Gestora responsável pela execução do objeto do TED, no campo "b", apenas caso a Unidade Responsável pela execução tenha UG própria.

3. OBJETO DO TERMO DE EXECUÇÃO DESCENTRALIZADA:

Ações de pesquisa para o avanço do diagnóstico de enfermidades ligadas a programas sanitários

4. OBRIGAÇÕES E COMPETÊNCIAS DOS PARTICIPANTES

4.1. Unidade Descentralizadora

1. - analisar e aprovar a descentralização de créditos;
2. - analisar, aprovar e acompanhar a execução do Plano de Trabalho;
3. - descentralizar os créditos orçamentários;
4. - repassar os recursos financeiros em conformidade com o cronograma de desembolso;
5. - aprovar a prorrogação da vigência do TED ou realizar sua prorrogação, de ofício, quando necessário;
6. - aprovar as alterações no TED;
7. - solicitar Relatórios parciais de Cumprimento do Objeto ou outros documentos necessários à comprovação da execução do objeto, quando necessário;
8. - analisar e manifestar-se sobre o Relatório de Cumprimento do Objeto apresentado pela Unidade Descentralizada;
9. - solicitar à Unidade Descentralizada que instaure a tomada de contas especial, ou promover diretamente a instauração, quando cabível;
X - emitir certificado de disponibilidade orçamentária;
11. - registrar no SIAFI o TED e os aditivos, mantendo atualizada a execução até a conclusão;
12. - prorrogar de ofício a vigência do TED quando ocorrer atraso na liberação de recursos, limitado ao prazo do atraso;
13. - publicar os extratos do TED e termos aditivos no sítio eletrônico oficial, bem como disponibilizar a íntegra do TED celebrado e do Plano de Trabalho atualizado, no prazo de vinte dias, contado da data da assinatura; e
14. - designar os agentes públicos federais que atuarão como gestores titulares e

suplentes do TED, no prazo de vinte dias, contado da data da celebração do TED, devendo o ato de designação ser publicado no sítio eletrônico oficial.

15. - instaurar tomada de contas especial, quando cabível e a unidade descentralizada não o tenha feito no prazo para tanto.
16. - suspender as descentralizações, na hipótese de verificação de indícios de irregularidades durante a execução do TED, com a tomada das providências previstas no art. 19 do Decreto nº 10.426/2020.

4.2. Unidade Descentralizada

1. - elaborar e apresentar o Plano de Trabalho;
2. - apresentar a Declaração de Capacidade Técnica necessária à execução do objeto;
3. - apresentar a Declaração de Compatibilidade de Custos;

4. - executar os créditos orçamentários descentralizados e os recursos financeiros recebidos;
5. - aprovar as alterações no TED;
6. - encaminhar à Unidade Descentralizadora:

1. Relatórios parciais de Cumprimento do Objeto, quando solicitado; e
2. o Relatório final de Cumprimento do Objeto;

7. - zelar pela aplicação regular dos recursos recebidos e assegurar a conformidade dos documentos, das informações e dos demonstrativos de natureza contábil, financeira, orçamentária e operacional;
8. - citar a Unidade Descentralizadora quando divulgar dados, resultados e publicações referentes ao objeto do TED, quando necessário;
9. - instaurar tomada de contas especial, quando necessário, e dar conhecimento dos fatos à Unidade Descentralizadora;

X- devolver à Unidade Descentralizadora os saldos dos créditos orçamentários descentralizados e não empenhados e os recursos financeiros não utilizados, conforme disposto no § 1º do art. 7º do Decreto nº 10.426, de 16 de julho de 2020;

11. - devolver os créditos orçamentários e os recursos financeiros após o encerramento do TED ou da conclusão da execução do objeto, conforme disposto no § 2º do art. 7º do Decreto nº 10.426, de 2020;
12. - disponibilizar no sítio eletrônico oficial a íntegra do TED celebrado e do Plano de Trabalho atualizado, no prazo de vinte dias, contado da data da assinatura;
13. - devolver para a Unidade Descentralizadora os rendimentos de aplicação financeira auferidos em parcerias celebradas com recursos do TED, nas hipóteses de restituição previstas na legislação específica; e
14. - designar os agentes públicos federais que atuarão como gestores titulares e suplentes do TED, no prazo de vinte dias, contado da data da celebração do TED, devendo o ato de designação ser publicado no sítio eletrônico oficial.
15. - disponibilizar, mediante solicitação, documentos comprobatórios da aplicação regular dos recursos aos órgãos de controle e à unidade descentralizadora.

5. VIGÊNCIA

O prazo de vigência deste Termo de Execução Descentralizada será de 24 meses, contados a partir da data de sua assinatura, podendo ser prorrogado de acordo com o disposto no art. 10 do Decreto nº 10.426, de 2020.

Início: 12/2020 - Fim: 11/2022

Observações:

1. O prazo máximo da vigência é de até 60 (sessenta meses); e
2. Considerando que a publicação do extrato do TED deve se dar no sítio oficial da Unidade Descentralizadora, sugere-se que o início da vigência seja considerado a contar da data de assinatura.

6. VALOR DO TED: R\$ 1.649.099,77

7. CLASSIFICAÇÃO FUNCIONAL PROGRAMÁTICA:

SUBFUNÇÃO 604 DEFESA SANITÁRIA ANIMAL

8. BENS REMANESCENTES

O Objeto do Termo de Execução Descentralizada contempla a aquisição, produção ou construção de bens?

() Sim

(x) Não

Se sim, informar a titularidade e a destinação dos bens quando da conclusão do TED:

9. DAS ALTERAÇÕES

Ficam os partícipes facultados a alterar o presente Termo de Execução Descentralizada ou o respectivo Plano de Trabalho, mediante termo aditivo, vedada a alteração do objeto aprovado

As alterações no plano de trabalho que não impliquem alterações do valor global e da vigência do TED poderão ser realizadas por meio de apostila ao termo original, sem necessidade de celebração de termo aditivo, vedada a alteração do objeto aprovado, desde que sejam previamente aprovados pelas unidades descentralizadora e descentralizada.

10. DA AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

A Unidade Descentralizada apresentará relatório de cumprimento do objeto conforme previsto no art. 23 do decreto nº 10.426, de 2020, cuja análise ocorrerá pela Unidade Descentralizadora nos termos do art. 24 do mesmo normativo.

Rejeitado total ou parcialmente o relatório de cumprimento do objeto pela Unidade Descentralizadora, deverá a unidade descentralizada instaurar tomada de contas especial para apurar eventuais danos ao erário e respectivos responsáveis para fins de recomposição do erário público.

Observações:

Os partícipes do TED podem prever que, além da obrigatória tomada de providências para recomposição ao erário, que eventual rejeição do relatório de cumprimento do objeto poderá (ou deverá) gerar ajustes no Plano de Trabalho, inclusive para fins de previsão de prestação alternativa, se houver interesse e viabilidade para tanto, desde que enquadrados nas hipóteses do inciso I do art. 3º do Decreto nº 10.426/2020.

11. DA DENÚNCIA OU RESCISÃO

11.1. Denúncia

O Termo de Execução Descentralizada poderá ser denunciado a qualquer tempo, hipótese em que os partícipes ficarão responsáveis somente pelas obrigações pactuadas e auferirão as vantagens do período em que participaram voluntariamente do TED.

11.2. Rescisão

Constituem motivos para rescisão do presente TED:

1. - o inadimplemento de qualquer das cláusulas pactuadas;
2. - a constatação, a qualquer tempo, de irregularidades na execução do TED; e
3. - a verificação de circunstâncias que ensejem a instauração de tomada de contas especial; ou
4. - a ocorrência de caso fortuito ou de força maior que, mediante comprovação, impeça a execução do objeto.

12. SOLUÇÃO DE CONFLITO

Para dirimir quaisquer questões de natureza jurídica oriundas do presente Termo, os partícipes comprometem-se a solicitar o auxílio da Câmara de Conciliação e Arbitragem da Administração Federal da Advocacia-Geral da União - CCAF/AGU.

13. PUBLICAÇÃO

O TED e seus eventuais termos aditivos, que impliquem em alteração de valor ou, ainda, ampliação ou redução de prazo para execução do objeto, serão assinados pelos partícipes e seus extratos serão publicados no sítio eletrônico oficial da Unidade Descentralizadora, no prazo de vinte dias, contado da data da assinatura, conforme disposto no art. 14 do Decreto nº 10.426, de 2020.

As Unidades Descentralizadora e Descentralizada disponibilizarão a íntegra do TED celebrado e do Plano de Trabalho atualizado em seus sítios eletrônicos oficiais no prazo a que se refere o caput.

14. ASSINATURAS

Data	José Guilherme Tollstadius Leal CPF: 702.317.376-53 Assinatura da Autoridade da Unidade Descentralizadora, com competência para assinar o TED
------	---

Data	Luiz Orcirio Fialho de Oliveira CPF: 424.613.836-34 Assinatura da Autoridade da Unidade Descentralizada, com competência para assinar o TED
Data	Paulo Henrique Nogueira Biscola CPF: 722.425.071-68 Assinatura da Autoridade da Unidade Descentralizada, com competência para assinar o TED

Observação: Identificação dos responsáveis pela assinatura do TED. Ministro ou dirigente máximo da entidade da administração indireta, ou autoridade à qual foi delegada por estes a competência para assinatura de TED.

Delegação não é vedada no Decreto nº 10.426, de 2020, portanto, é permitida.

II - PLANO DE TRABALHO DO TERMO DE EXECUÇÃO DESCENTRALIZADA Nº 02/2020

1. DADOS CADASTRAIS DA UNIDADE DESCENTRALIZADORA

1.1. Unidade Descentralizadora e Responsável

Nome do órgão ou entidade descentralizadora: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Nome da autoridade competente: José Guilherme Tollstadius Leal

Número do CPF: 702.317.376-53

Nome da Secretaria/Departamento/Unidade Responsável pelo acompanhamento da execução do objeto do TED: Secretaria de Defesa Agropecuária

Identificação do Ato que confere poderes para assinatura: Portaria nº 337, de 4 de novembro de 2020.

1.2. UG SIAFI

Número e Nome da Unidade Gestora - UG que descentralizará o crédito: UG: 130007 - Secretaria de Defesa Agropecuária-SDA/MAPA.

Número e Nome da Unidade Gestora responsável pelo acompanhamento da execução do objeto do TED: UG: 130007 - Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA/MAPA.

Observações:

1. Identificação da Unidade Descentralizadora e da autoridade competente para assinatura do TED; e
2. Preencher número da Unidade Gestora responsável pelo acompanhamento da execução do objeto do TED, no campo "b", apenas caso a Unidade Responsável pelo acompanhamento da execução tenha UG própria.

2. DADOS CADASTRAIS DA UNIDADE DESCENTRALIZADA

2.1. Unidade Descentralizada e Responsável

Nome do órgão ou entidade descentralizada: Razão Social: Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte. Nome Fantasia: Embrapa Gado de Corte. CNPJ:00348003004612. Inscrição Estadual: 28210307-4. UG SIAFI 135017. Código de Gestão: 13203.

Nome da autoridade competente: Luiz Orcirio Fialho de Oliveira

Número do CPF: 424.613.836-34

Nome da Secretaria/Departamento/Unidade Responsável pela execução do objeto do TED: Chefia Geral Embrapa Gado de Corte.

Nome da autoridade competente: Paulo Henrique Nogueira Biscola

Número do CPF: 722.425.071-68

Nome da Secretaria/Departamento/Unidade Responsável pela execução do objeto do TED: Chefia de Administração da Embrapa Gado de Corte.

Identificação do Ato que confere poderes para assinatura:

O ato de delegação que confere ao chefe geral e Chefe Administrativo da Embrapa Gado de Corte a competência para assinatura do TED é a Portaria nº1046 e nº1047 de 26 de outubro de 2020, publicada no BCA 050/2020, associada a portaria de nomeação de ambos a Chefia Geral e Chefia de Administração.

2.2. UG SIAFI

Número e Nome da Unidade Gestora - UG que receberá o crédito:

Embrapa Gado de Corte UG nº135017 e Código de Gestão nº13203.

Número e Nome da Unidade Gestora - UG responsável pela execução do objeto do TED:

Embrapa Gado de Corte UG nº135017 e Código de Gestão nº13203.

Observações:

1. Identificação da Unidade Descentralizada e da autoridade competente para assinatura do TED; e
2. Preencher número da Unidade Gestora responsável pela execução do objeto do TED, no campo "b", apenas caso a Unidade Responsável pela execução tenha UG própria.

A Unidade Descentralizadora autoriza a subdescentralização para outro órgão ou entidade da administração pública federal?

(X) Sim

() Não

3. OBJETO: Ações de pesquisa para o avanço do diagnóstico de enfermidades ligadas a programas sanitários

4. DESCRIÇÃO DAS AÇÕES E METAS A SEREM DESENVOLVIDAS NO ÂMBITO DO TED:

Título: Ações de pesquisa para o avanço do diagnóstico de enfermidades ligadas a programas sanitários

Plano de ação 1. Caracterização genômica e proteômica de cepas de *Burkholderia mallei* no Brasil.

Pesquisador responsável: Flávio Ribeiro de Araújo, Embrapa Gado de Corte.

Meta 1.1. Determinação da estrutura populacional, eventos de transmissão e análise de persistência de focos de *Burkholderia mallei* em equídeos das diferentes regiões do Brasil por sequenciamento genômico.

Pesquisador responsável: Flávio Ribeiro de Araújo, Embrapa Gado de Corte.

Meta 1.2. Padronização de MALDI-TOF para confirmação da identidade de *Burkholderia mallei* isolado em cultura de casos clínicos detectados no Brasil e diferenciação de *B. pseudomallei*.

Pesquisador responsável: Newton Valério Verbisek, Embrapa Gado de Corte.

Plano de ação 2. Aprimoramento do diagnóstico do mormo no Brasil.

Pesquisador responsável: Emanuelle Baldo Gaspar, Embrapa Pecuária Sul.

Meta 2.1 Desenvolvimento de banco referência de amostras clínicas de *Burkholderia mallei*, por meio de infecção experimental de equídeos.

Pesquisador responsável: Emanuelle Baldo Gaspar, Embrapa Pecuária Sul.

Meta 2.2. Determinação do desempenho dos testes ELISA e Western Blotting (WB) para diagnóstico de mormo, disponíveis no Brasil, com banco referência de soros.

Pesquisador responsável: Josir Laine Aparecida Veschi. Embrapa Semiárido.

Meta 2.3. Desenvolvimento de uma metodologia de diagnóstico sorológico para diferenciação entre *Burkholderia mallei* e *B. pseudomallei*.

Pesquisador responsável: Emanuelle Baldo Gaspar, Embrapa Pecuária Sul.

Plano de ação 3. Desenvolvimento, padronização e validação de ensaios sorológicos a campo, para detecção de patógenos de interesse para a defesa sanitária animal.

Pesquisador responsável: Lenita Ramires dos Santos, Embrapa Gado de Corte.

Meta 3.1: Estabelecimento de bancos de soro de referência para anticorpos contra o vírus da febre aftosa, *Mycobacterium bovis* e *Senecavirus A*. Pesquisador responsável: Josir Laine Aparecida Veschi. Embrapa Semiárido.

Meta 3.2 Desenvolvimento de protótipos de testes de fluxo lateral para detecção de anticorpos contra o vírus da febre aftosa, *Mycobacterium bovis* e *Senecavirus A*.

Lea Chapaval Andri. Embrapa Pecuária Sudeste.

Meta 3.3 Determinação do desempenho de testes de fluxo lateral para detecção de anticorpos contra o vírus da febre aftosa, mediante ensaios pré-clínicos. Pesquisador responsável: Vanessa Felipe de Souza, Embrapa Gado de Corte.

Meta 3.4 Determinação do desempenho de testes de fluxo lateral para detecção de anticorpos contra *Mycobacterium bovis*, mediante ensaios pré-clínicos. Pesquisador responsável: Lenita Ramires dos Santos, Embrapa Gado de Corte.

Meta 3.5 Determinação do desempenho de testes de fluxo lateral para detecção de anticorpos contra o *Senecavirus A*, mediante ensaios pré-clínicos.

Pesquisador responsável: Janice Reis Ciacci Zanella, Embrapa Suínos e Aves.

5. JUSTIFICATIVA E MOTIVAÇÃO PARA CELEBRAÇÃO DO TED:

A Divisão de Defesa Sanitária Animal (DSA) é responsável pelo planejamento e execução das atividades de profilaxia, controle ou erradicação de enfermidades de impacto econômico, sanitário ou de saúde pública em nosso país. Essa divisão cria os meios para impedir a introdução de agentes patogênicos de relevância para a saúde animal e para a saúde pública, elaborando também as normas técnicas para fins de defesa sanitária animal e gerenciando a execução dos programas sanitários delegados pelo MAPA.

Os programas sanitários geridos pelo Departamento de Saúde Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (DSA/MAPA) estão amplamente apoiados no diagnóstico oportuno e preciso. Para tanto, é necessário, além de um alinhamento com as diretrizes internacionais no campo da saúde animal, definidas no âmbito da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), esforços nacionais para o desenvolvimento de novas tecnologias, adaptadas às necessidades do País e padronização das já existentes, objetivando, em última análise, o fortalecimento da vigilância para as doenças sob programas oficiais a na geração ou padronização de tecnologias de fortalecimento do diagnóstico, que apoiem cenários epidemiológicos novos ou que elucidem lacunas de conhecimento dentro deste contexto. A geração destas tecnologias pode promover a autonomia nacional por insumos, contribuindo para a melhoria do diagnóstico e fortalecendo a imagem dos programas sanitários do MAPA.

Este projeto contempla ações de pesquisa para o fortalecimento do diagnóstico do mormo e o desenvolvimento de métodos rápidos, para uso à campo, para detecção de anticorpos para febre aftosa, tuberculose bovina e doença vesicular causada por Senecavirus A.

O Mormo é uma enfermidade da lista das doenças de notificação obrigatória da Organização Mundial de Sanidade Animal (OIE), causada por *Burkholderia mallei*. Equídeos são o principal hospedeiro e reservatório. Segundo os Art. 61 e 63 do Decreto nº 24.548/34, pelo impacto para a Saúde Pública e por não existir cura para a enfermidade, é obrigatório a eutanásia dos animais infectados.

Para efeitos do Código Terrestres, Mormo é definido como uma infecção de equinos por *B. mallei* com ou sem a presença de sinais clínicos. Mormo em humanos é uma doença rara, mas potencialmente fatal (OIE, 2018).

Segundo o Art. 2º da Portaria nº 35, de 17 de abril de 2018, os testes de triagem para o diagnóstico laboratorial do mormo são a Fixação de Complemento (FC) e o ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ou ensaio de imunoabsorção enzimática), sendo que após 23 de abril de 2020, a FC passou a ser utilizada apenas para a finalidade de trânsito internacional. De forma complementar, segundo o Art. 3º da citada normativa, o teste confirmatório para o diagnóstico laboratorial do mormo é o Western Blotting - imunoblotting (WB).

Em 06/09/2019, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA formalizou uma Rede de Colaboração (RC) técnica científica para organizar e fomentar a sinergia entre as diversas instituições e atores, na busca do contínuo aperfeiçoamento de protocolos de diagnóstico para controle, prevenção e erradicação do Mormo no Brasil, no âmbito do Programa Nacional de Sanidade dos Equídeos – PNSE, conforme Instrução Normativa nº 6, de 16 de janeiro de 2018.

Embora surtos de mormo sejam comuns em regiões de endemicidade da doença, muito do que se sabe sobre a ecologia e a dinâmica natural da população de *B. mallei* depende de evidências indiretas e da opinião de especialistas, com pouco ou nenhum conhecimento sobre sua diversidade genética (Hornstra et al. 2009). No Brasil, há pouca informação sobre a diversidade genética de isolados de *B. mallei*. Silva et al. (2009), trabalhando com oito cepas de *B. mallei* da região Nordeste, encontraram quatro perfis distintos por ribotipagem-PCR. Posteriormente, Girault et al. (2017) sequenciaram parcialmente o genoma da cepa 16-2438 BM de *B. mallei*, isolada de uma mula, em Pernambuco. Mais recentemente, Falcão et al. (2019), por meio do sequenciamento de fliP de seis isolados da região Nordeste, caracterizaram a presença de isolados Turkey 10. Um isolado de *B. mallei* de mula, do Estado de Pernambuco, foi sequenciado e tipificado pela análise de SNPs, posicionando a cepa brasileira no agrupamento L3, com diversas cepas turcas e algumas cepas da Hungria, Índia, Irã, Rússia e EUA (Laroucau et al. 2018).

A vigilância epidemiológica do mormo demanda a genotipagem de isolados, que permitam determinar a diversidade dos isolados nas distintas regiões. No entanto, os marcadores gerados pela técnica convencional de genotipagem de *B. mallei*, multilocus variable number tandem repeat (VNTR) analysis (MLVA), são inadequados para determinar níveis profundos de relação evolutiva (Hornstra et al. 2009) e para definir mais precisamente a relação filogenética de isolados (Laroucau et al. 2018). O sequenciamento genômico permite determinar, além da estrutura populacional dos isolados de *B. mallei*, relações filogenéticas e eventos de transmissão entre regiões (Scholz et al. 2014). Além disso, possibilita determinar se ocorre persistência de isolados ao longo do tempo em uma determinada região (Hornstra et al. 2009).

Outro aspecto relevante refere-se à diferenciação da melioidose. Esta enfermidade, causada por *Burkholderia pseudomallei*, manifesta grande semelhança ao mormo no que diz respeito às síndromes clínicas, bem como nos caracteres fenotípicos e genotípicos de seus agentes (Tanpiboonsak et al. 2004). Embora a melioidose tenha sido descrita em humanos ou como um microrganismo ambiental no Brasil (Rolim et al. 2018, Volpe-Chaves et al. 2019), os métodos sorológicos atualmente disponíveis para o mormo não diferenciam para melioidose em equinos experimentalmente infectados com *B. pseudomallei* (Wernery et al. 2019). Desta forma, é necessário avaliar se os isolados bacterianos de casos suspeitos de mormo são *B. mallei* ou *B. pseudomallei* por técnicas moleculares ou proteômicas, e/ou desenvolver métodos sorológicos que permitam esta diferenciação.

Recentemente, a espectrometria de massa com fonte de ionização e desorção a laser assistida por matriz e analisador de massas do tipo tempo-de-vôo (MALDI-TOF) tem sido utilizada como ferramenta de pesquisa na detecção e identificação de vários isolados bacterianos (Sriram et al. 2018). A técnica permite a comparação do espectro de massas de um microrganismo isolado com os espectros de referência de cepas conhecidas, possibilitando a classificação e identificação do patógeno com mais rapidez do que os métodos convencionais (Patel 2015). A velocidade, a robustez e os custos mínimos de preparação e medição de amostras tornam esta técnica excepcionalmente adequada para uso rotineiro e de alto rendimento (Huang et al. 2018). A análise proteômica por MALDI-TOF pode permitir a identificação correta dos isolados de *B. mallei*, e distinção de possíveis contaminações com bactérias do mesmo gênero.

Nos últimos cinco anos, o Brasil avançou consideravelmente com relação à qualidade do diagnóstico sorológico do mormo. Três testes imunoenzimáticos (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática-ELISA) e duas provas confirmatórias por Western blot foram desenvolvidos com tecnologia nacional, por empresas privadas e pelo Panaftosa. Em abril de 2018, com a publicação da Portaria nº 35 da Secretaria de Defesa Agropecuária o teste de ELISA passou a ser considerado um teste oficial de triagem de mormo no país. Esta medida é de extrema importância pois a FC tem sensibilidade e especificidade questionáveis, sendo considerada ineficaz para as medidas de controle, principalmente em situações de baixa prevalência.

Os ensaios imunoenzimáticos, principalmente o ELISA, são considerados mais adequados para dar suporte às medidas de controle e para a realização de inquéritos epidemiológicos (OIE 2018), por serem de fácil execução, permitirem a automatização ou semi-automatização e não terem caráter de leitura subjetivo. Além disso, é imperioso que testes preconizados em programas oficiais de controle e erradicação não tenham dependência tecnológica de outros países, garantindo a independência nacional.

Apesar deste enorme avanço nacional com relação ao diagnóstico, o desenvolvimento de novos testes de diagnóstico, não só para mormo, esbarra em algumas dificuldades técnicas. Uma delas é com relação à obtenção de amostras sabidamente positivas e negativas utilizadas na padronização. Amostras sabidamente negativas devem ser obtidas, preferencialmente de áreas livres (Crowther 2009) e amostras positivas de animais sabidamente positivos, preferencialmente por confirmação da etiologia por isolamento do microrganismo causador da doença.

Atualmente, temos disponíveis três kits de testes de ELISA padronizados no Brasil, um pela empresa Biovetech, um pela empresa Quibasa-Bioclin e outro pelo Panaftosa. No kit da Biovetech o antígeno é um extrato semi-purificado de *B. mallei*, enquanto nos outros dois kits, proteínas recombinantes são usadas como antígeno. Como controle negativo para a padronização a Biovetech utilizou amostras de animais provenientes de áreas livres (França, Polônia e Irlanda) e de animais do Brasil rotineiramente testados por FC, sempre com resultados negativos. Para os animais sabidamente positivos a Biovetech utilizou soro de 162 animais provenientes de um foco de mormo no Estado do Pernambuco, todos positivos por fixação de complemento (FC) e Western Blot (WB), sendo 31 necropsiados e com lesões. O Panaftosa utilizou 42 amostras de animais sabidamente positivos e negativos por FC e WB fornecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Além disso, 21 animais positivos ou suspeitos foram encaminhados à estação quarentenária de Cananéia e acompanhados por dois anos (Panaftosa 2018). Para o kit da Quibasa-Bioclin estas informações não estão disponíveis, apenas a informação de que foram utilizadas amostras clínicas.

No caso dos ELISAs da Biovetech e do Panaftosa, embora a padronização tenha sido efetuada com amostras sabidamente positivas e em animais acompanhados por períodos relativamente longos, todos os animais eram infectados naturalmente, ou seja, a data da infecção não era conhecida. Como o mormo, principalmente em cavalos, é conhecido por ser uma doença crônica, sendo que, em áreas endêmicas, é, inclusive, comum a presença de animais assintomáticos, ter um banco de amostras com data conhecida de infecção é algo bastante valioso, pois nos permitirá assegurar a eficiência dos testes já desenvolvidos de ELISA em amostras de animais em período pré-patente, e nas fases aguda e crônica da doença. Também é relevante que os kits comerciais de ELISA e Western blot, disponíveis no Brasil, sejam testadas com um banco de amostras de soros de equídeos naturalmente infectados, porém caracterizados por laboratórios oficiais, de forma a determinar a sensibilidade e especificidade deles com o mesmo banco de soros.

A febre aftosa (do inglês Foot and Mouth Disease, FMD) é uma doença altamente infecciosa e contagiosa causada por um vírus pertencente à família Picornaviridae, capaz de infectar espécies de animais domésticos de casco fendido, incluindo bovinos, suínos, caprinos e ovinos (Stenfeldt et al. 2019), além de animais selvagens (Atuman et al. 2020).

Os surtos de febre aftosa em um país sempre resultam em perdas econômicas conspícuas para a pecuária e, posteriormente, levam a sérios danos socioeconômicos devido à imposição imediata de embargo comercial (Wong et al. 2020) e impacta sobre a economia nacional de diversos países, afetando todo setor agropecuário em termos de produção, produtividade e rentabilidade.

Há sete sorotipos do vírus da febre aftosa: A, O, C, Ásia 1 e Southern African Territories (SAT) 1, 2 e 3 (Yang et al. 2020).

O controle da febre aftosa no Brasil é regulamentado pelo Programa Nacional de

Erradicação e Prevenção da Febre Aftosa (PNEFA) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A primeira zona livre de febre aftosa com vacinação foi implantada em 1998, incluindo o Estado do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, iniciando, a partir de então, um processo gradativo de implantação de zonas livres no país. Em 2007, a OIE reconheceu o Estado de Santa Catarina como a primeira zona livre de febre aftosa sem vacinação do país, situação que se mantém atualmente. Em 2014, a zona livre de febre aftosa com vacinação foi ampliada, abarcando os sete estados do Nordeste e a região norte do Pará. Em 2018, nova ampliação da zona livre com vacinação se deu mediante a inclusão dos Estados de Roraima e Amapá e o restante dos Estados do Amazonas e Pará, configurando a totalidade do território brasileiro como livre de febre aftosa. Desde abril de 2006, portanto há mais de 13 anos, o Brasil se mantém sem ocorrência da doença (Brasil 2019).

Atualmente, está em andamento o Plano Estratégico do PNEFA, que tem como objetivo principal “criar e manter condições sustentáveis para garantir o status de país livre da febre aftosa e ampliar as zonas livres de febre aftosa sem vacinação, protegendo o patrimônio pecuário nacional e gerando o máximo de benefícios aos atores envolvidos e à sociedade brasileira”. Foi delineado para ser executado em um período de 10 anos, iniciando em 2017 e encerrando em 2026. Está alinhado com o Código Sanitário para os Animais Terrestres, da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), e com as diretrizes do Programa Hemisférico de Erradicação da Febre Aftosa (PHEFA), convergindo com os esforços para a erradicação da doença na América do Sul. Um dos seus objetivos é a substituição gradual da vacinação contra a febre aftosa, em todo o território brasileiro, que implica na adoção de diversas ações a serem desenvolvidas em âmbito municipal, estadual e nacional, com o envolvimento do Serviço Veterinário Oficial (SVO), setor privado, produtores rurais e agentes políticos. As ações previstas no Plano Estratégico foram organizadas na forma de 16 operações, agrupadas em quatro componentes: a. ampliação das capacidades dos serviços veterinários; b. fortalecimento do sistema de vigilância em saúde animal; c. Interação com as partes interessadas no programa de prevenção da febre aftosa; e d. realização da transição de livre com vacinação para zona livre sem vacinação em todo o país (Brasil 2019).

Geralmente, um caso suspeito de febre aftosa pode ser identificado com base em observações de sinais clínicos. No entanto, a gravidade dos sinais clínicos em animais é afetada por muitos fatores, como a espécie e a idade dos animais, cepas do vírus, dosagem de exposição ao vírus e a imunidade do hospedeiro. Os sinais clínicos são geralmente mais graves em bovinos e suínos criados de forma intensiva, em comparação com caprinos e ovinos (Kitching e Alexandersen 2002, OIE 2018). A febre aftosa é caracterizada por lesões na língua, focinho, cavidade oral, bandas coronárias e tetos. Outros sinais clínicos frequentemente observados incluem febre, perda de apetite, perda de peso, hipersalivação, depressão, retardo de crescimento e diminuição severa na produção de leite, que pode persistir após a recuperação (OIE 2018). No entanto, os diagnósticos baseados em sinais clínicos são altamente duvidosos, pois várias outras doenças vesiculares compartilham alterações semelhantes à febre aftosa. Portanto, o diagnóstico laboratorial confirmatório de qualquer caso de suspeito é vital (Wong et al. 2020).

O diagnóstico da febre aftosa também pode ser confirmado pela detecção de anticorpos específicos em amostras de soro. Como a infecção pelo vírus da febre aftosa frequentemente resulta na produção de anticorpos contra os antígenos virais, podendo ser identificados cerca de quatro dias pós-infecção (Pega et al. 2013), a detecção desses anticorpos pode, portanto, indicar a presença de infecção atual ou anterior.

No Brasil, com a transição do status de livre com vacinação para zona livre sem vacinação, o sistema de vigilância precisará de ferramentas que possam dar suporte no momento do diagnóstico clínico por médicos veterinários, na eventualidade de confirmação/descarte de eventuais focos.

Até o momento, ensaios típicos para diagnóstico de febre aftosa, como isolamento viral e RT-qPCR, têm sido empregados em laboratórios de referência de febre aftosa (Knight-Jones et al. 2016), porém dependem muito da disponibilidade de equipamentos de alto rendimento e de pessoal altamente treinado. Além disso, a má qualidade das amostras resultantes do transporte de materiais do campo ao laboratório pode dificultar ou atrasar o diagnóstico precoce da doença. Além dos métodos diretos, a sorologia também é empregada no diagnóstico da febre aftosa. No Brasil, animais suspeitos de febre aftosa são testados em prova de imunoadsorção enzimática indireta, utilizando proteínas não estruturais (ELISA 3ABC), seguido de prova confirmatória EITB (EnzymeLinked Immunoelctrotransfer Blot) (Brasil 2017). Ambos os testes necessitam ser realizados em laboratório, pois demandam estrutura e equipamentos específicos.

A tuberculose bovina (bTB) é uma doença infecciosa crônica causada por *Mycobacterium bovis*, que afeta espécies domésticas, principalmente bovinos e bubalinos, além de outros animais selvagens (Pesciaroli et al. 2014). Esta doença causa grandes perdas econômicas, constitui uma barreira sanitária para o comércio internacional (Fieni et al. 2016) e representa um risco para a saúde pública (Olea-Popelka et al. 2017).

Em vários países, os programas de controle de bTB envolvem a detecção e o abate de animais infectados com base em testes intradérmicos (Nuñez-Garcia et al. 2018). No entanto, existem preocupações quanto à sensibilidade moderada de tais testes, que podem produzir resultados falso-negativos (Lahuerta-Marin et al. 2016).

Estudos anteriores descrevendo o uso de ensaios sorológicos para a detecção de anticorpos contra *M. bovis* revelaram baixa especificidade diagnóstica (Wadhwa et al. 2014). No entanto, novos testes surgiram com base em proteínas recombinantes que foram usadas como antígenos (Casal et al. 2014). Uma vez que a cinética da resposta do anticorpo na presença de diferentes antígenos de *M. bovis* é variável na fase de infecção (Lyashchenko et al. 1998, Waters et al. 2006), espera-se que a combinação de antígenos recombinantes como um pool ou antígeno quimérico (proteína de fusão) permita a detecção de anticorpos de bovinos em diferentes estágios de infecção por *M. bovis* (Souza et al. 2012).

Em um estudo anterior, um ensaio sorológico de imunoadsorção enzimática, baseado em uma quimera recombinante de ESAT-6/MPB70/MPB83 como antígeno, demonstrou concordância satisfatória com o teste intradérmico. Este antígeno foi produzido por clonagem das sequências de codificação de DNA para os domínios hidrofílicos de ESAT-6, MPB70 e MPB83, e então expresso na cepa Rosetta de *E. coli* como uma proteína de fusão de 35 kDa (Souza et al. 2012). No entanto, as comparações entre os testes de diagnóstico baseados em respostas sorológicas e mediadas por células não são as mais adequadas, pois há evidências que sugerem que os testes sorológicos são particularmente úteis para detectar animais falsos negativos em testes intradérmicos (Casal et al. 2017).

Posteriormente, a cobertura diagnóstica fornecida pela associação do teste cervical comparativo (TCC) e do ELISA de ESAT-6/MPB70/MPB83 foi avaliada em rebanhos bovinos com tuberculose bovina, comparando-se aos achados post mortem e cultura de *M. bovis*. Em um grupo de 21 animais positivos ao TCC, houve 18 achados de lesões sugestivas de tuberculose (LST) (85,7%), 15 culturas confirmadas de *M. bovis* (71,4%) e 19 animais positivos ao ELISA (90,5%). Em um grupo com 32 animais negativos ao TCC, 25 apresentaram LST (78,1%), 24 (75%) foram positivos à cultura e 24 (75%), positivos ao ELISA. Desta forma, demonstrou-se que o uso de ELISA com a quimera recombinante de ESAT-6/MPB70/MPB83 como antígeno complementa a cobertura diagnóstica fornecida pelo TTC e aumenta a remoção de animais infectados dos rebanhos (Souza et al. 2019). Outras possibilidades também serão exploradas por meio da busca de antígenos e anticorpos nas literaturas de maneira que seja encontrada a melhor opção com relação a sensibilidade e especificidade do antígeno a ser utilizado para o teste.

Apesar das evidências de que métodos sorológicos, em combinação com os testes intradérmicos, possibilitem uma melhoria na cobertura diagnóstica da tuberculose bovina, o ELISA é uma técnica que demanda uso de equipamento para sua leitura e etapas de execução que não a tornam adequada para aplicação em condições de campo. Um teste pen-side, ou seja, que possa ser realizado a campo, seria útil para teste imediato de animais negativos ao teste intradérmico, facilitando a tomada de decisões de diagnóstico e acelerando o saneamento dos rebanhos.

A infecção pelo Senecavírus A (SVA) ou doença vesicular associada à infecção com o Seneca Valley Virus (Senecavírus A), é um exemplo de doença emergente que se tornou endêmica no Brasil (Leme et al. 2015, Vannucci et al. 2015). O SVA é um vírus RNA de fita simples, não envelopado, pertencente à família Picornaviridae, da qual também faz parte o vírus da febre aftosa (FMDV) e da doença vesicular dos suínos (SVDV). O SVA foi inicialmente detectado como um contaminante em cultura de células em 2002, e subsequentemente isolado em suínos nos Estados Unidos e no Canadá. Um dos agravantes é a presença de vesículas, semelhantes à aftosa, em suínos ao abate, o que pode causar problemas econômicos, em razão da destinação das carcaças dada pela inspeção (Leme et al. 2015, Vannucci et al. 2015, Ciacci-Zanella et al. 2015, 2016, Becker et al. 2020).

O local e a data precisos do aparecimento da infecção pelo Senecavírus no Brasil ainda são indeterminados (Leme et al. 2015, Vannucci et al. 2015). Inicialmente, observou-se alta mortalidade de leitões com 1 a 4 dias de idade, com alta frequência de diarreia entre os animais afetados (40% a 60%). O quadro clínico era transiente, e o curso nas granjas foi de 5 a 10 dias e não havia recidivas nos rebanhos afetados; o diagnóstico para as principais doenças que cursavam com alta mortalidade e/ou diarreia em leitões, no período neonatal, foi negativo; e não foram detectadas lesões histopatológicas significativas (Leme et al. 2015, Vannucci et al. 2015). No final de 2014, também começaram a ser relatadas lesões vesiculares, principalmente no focinho e na coroa dos cascos, similares às presentes nas doenças vesiculares dos suínos. A partir daí, houve notificação do problema aos órgãos de defesa sanitária competentes, isto é, ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e ao Serviço Veterinário Oficial dos Estados, que passaram a realizar testes diagnósticos diferenciais de doenças vesiculares nos suínos no LFDA/MAPA em Pedro Leopoldo, MG, como febre aftosa, estomatite vesicular, doença vesicular dos suínos e exantema vesicular; todos os testes foram negativos (Leme et al. 2015; Vannucci et al. 2015, CiacciZanella et al. 2015, 2016; Becker et al. 2020).

O diagnóstico da doença vesicular causada pelo SVA pode ser realizado o ensaio de RT-PCR a partir de amostras de tecido epitelial das lesões vesiculares, amostras de fluido vesicular, suabe oral, suabe das lesões do casco (banda coronária), suabe fecal, macerado intestinal, tonsila, linfonodos, baço, pulmão e soro dos suínos afetados. Anticorpos contra o SVA são detectados tanto no soro das fêmeas clinicamente afetadas,

como no soro de fêmeas saudáveis (sem lesões vesiculares), por até quatro semanas após início dos sinais clínicos. As fêmeas transmitem anticorpos contra o SVA para a leitegada, porém o papel destes na prevenção da infecção ainda é desconhecido.

Muitos aspectos da biologia, patogenia e epidemiologia do SVA ainda são desconhecidos. Anticorpos neutralizantes contra o SVA foram detectados em suínos, bovinos e camundongos nos Estados Unidos. Não existe indício de o SVA causar doença clínica em humanos, ou seja, a infecção pelo SVA não é considerada uma zoonose. Porém, o vírus apresenta atividade oncolítica, a qual tem sido explorada em pesquisas para tratamento do câncer em humanos.

As lesões vesiculares observadas em suínos causadas pelo Senecavírus A são clinicamente indistinguíveis das lesões observadas em suínos infectados pelo vírus da febre aftosa, doença vesicular dos suínos, estomatite vesicular e exantema vesicular dos suínos, portanto a caracterização clínica e epidemiológica de surtos de doença vesicular é essencial para a identificação do agente viral envolvido no surto de doença vesicular.

Métodos sorológicos como ELISA ou soroneutralização associados a RT-PCR apresentam bons resultados (Gimenez-Riola et al. 2016, Goolia et al. 2017).

Apesar das evidências de que métodos sorológicos, em combinação com testes moleculares como a RT-PCR ou mesmo o sequenciamento (Gava et al. 2016), possibilitem uma melhoria na cobertura diagnóstica da infecção pelo SVA, o ELISA é uma técnica que necessita do uso de equipamento para sua leitura e etapas de execução que não a tornam adequada ao uso em condições de campo. Um teste pen-side, ou seja, que possa ser realizado a campo, seria útil para teste imediato de animais negativos ao teste de RT-PCR, facilitando a tomada de decisões de diagnóstico na granja ou na inspeção e acelerando o

saneamento dos rebanhos.

Nos testes de fluxo lateral, ou imunocromatografia, uma amostra líquida contendo o analito de interesse se move através da membrana de celulose por uma força capilar e é capturada pelas moléculas aderidas que interagem com o analito ao longo da membrana. Neste contexto, uma partícula colorida ou fluorescente conjugada com um anticorpo que interage especificamente com o analito alvo é usada como o marcador para o desenvolvimento do sinal observado (Koczula et al. 2016). Os testes de fluxo lateral não dependem de equipamentos para sua execução, sendo, portanto, uma tecnologia que pode auxiliar o sistema de vigilância, com resultados diagnósticos obtidos a campo, facilitando a tomada de decisões de controle de enfermidades de interesse da defesa sanitária animal.

Diante do exposto, este projeto possui planos de trabalho e metas com a finalidade de promover o avanço do diagnóstico de enfermidades ligadas a programas sanitários.

Conforme Seção III, art. 3º, do Decreto 10.426/2020, a descentralização de créditos orçamentários de que trata este Decreto será motivada pela "I - execução de programas, de projetos e de atividades de interesse recíproco, em regime de colaboração mútua. Além disso, o Decreto 10.426/2020 prevê a subdescentralização dos recursos, na Seção VIII - Da execução, como segue:

Art. 16. A execução de programas, de projetos e de atividades será realizada nos termos estabelecidos no TED, observado o plano de trabalho e a classificação funcional programática.

§ 1º Caso seja expressamente previsto no TED, poderá haver subdescentralização entre a unidade descentralizada e outro órgão ou entidade da administração pública federal, hipótese em que a unidade responsável pela execução observará as regras estabelecidas no TED.

... § 3º A forma de execução dos créditos orçamentários descentralizados será expressamente prevista no TED e observará as características da ação orçamentária constantes do cadastro de ações, disponível no Sistema Integrado de Planejamento e Orçamento - Siop, e poderá ser:

...III - descentralizada, por meio da celebração de convênios, acordos, ajustes ou outros instrumentos congêneres, com entes federativos, entidades privadas sem fins lucrativos, organismos internacionais ou fundações de apoio regidas pela Lei nº 8.958, de 20 de dezembro de 1994.

§ 4º Na execução descentralizada de que trata o inciso III do § 3º, a unidade descentralizada poderá celebrar convênios, acordos, ajustes e outros instrumentos congêneres com entes federativos, entidades privadas sem fins lucrativos, organismos internacionais ou fundações de apoio regidas pela Lei nº 8.958, de 1994, observada a legislação aplicável a cada tipo de ajuste e mediante previsão expressa no TED."

Metodologia

Os experimentos para atingimento das metas deste TED serão coordenados pela Embrapa Gado Corte, sob Supervisão é do Departamento de Saúde Animal/ Secretaria de Defesa Agropecuária, e terão colaboração da Embrapa Pecuária

Sudeste, Embrapa Semiárido, Pecuária Sul, Embrapa Suínos e Aves, LFDA-MG,

LFDA-PE, LFDA-PA, Panaftosa, Instituto Carlos Chagas, da Fundação Oswaldo

Cruz, Paraná, Biomanguinhos (Fiocruz), Superintendências Federais de

Agricultura das Unidades Federativas, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Universidade de São Paulo e Órgãos Estaduais de Defesa Agropecuária – OESAs.

Plano de ação 1. Caracterização genômica e proteômica de cepas de

Burkholderia mallei no Brasil

Meta 1.1. Determinação da estrutura populacional, eventos de transmissão e análise de persistência de focos de *Burkholderia mallei* em equídeos das diferentes regiões do Brasil por sequenciamento genômico.

Sequenciamento genômico - Isolamentos bacterianos de equinos, asininos e muares, de diferentes partes do país, obtidos pelos diferentes laboratórios participantes do projeto, serão inativadas a 80°C por 30 minutos e remetidas ao Laboratório BIOPEC da Embrapa Gado de Corte. Parte do material será submetido à extração de DNA, com kit comercial DNAEasy (Qiagen). Em seguida, serão sequenciadas em empresa comercial, usando sistema HiSeq X Ten (Illumina), com 200x de cobertura. A qualidade dos reads será avaliada usando FastQC (version 0.10.1)

(<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). A remoção de reads de baixa qualidade será feita usando o programa Prinseq-lite (versão 0.20.3) (<http://prinseq.sourceforge.net/>).

Para cada isolado, seus reads serão montados com o programa SPAdes v3.8.1 (Bankevich et al. 2012).

As montagens serão verificadas pelo programa CheckM (Parks et al. 2015). Montagens com baixa completude ou alta contaminação serão verificadas manualmente, num ciclo iterativo de remontagens, até que sejam atingidos níveis de completude e contaminação considerados satisfatórios (em geral, pelo menos 95% de completude e no máximo 1% de contaminação).

Os genomas assim montados serão submetidos ao NCBI (National Center for Biotechnology Information) e anotados com o pipeline oferecido por essa plataforma.

Inferência de ortólogos - A inferência das famílias dos homólogos será realizada por meio do programa Get_Homologues v2.0 (Contreras-Moreira e Vinuesa, 2013), utilizando o script `get_homologues.pl` ('-m'), ativando o agrupamento

OrthoMCL (Li et al. 2003), com valores padrão. Subsequentemente, genes estritamente ortólogos, cópias únicas dos genes do core-genoma (core-coding) serão estimadas pelo mesmo programa, com o script `compare_clusters.pl`.

Curvas Core e Pan- Genoma - Para avaliar se o conjunto de genomas utilizados é representativo do conjunto genético total de *B. mallei*, serão estimadas as curvas pan e core- genoma, por meio do software Roary (Page et al. 2015).

Alinhamento múltiplo - Alinhamentos individuais de genes do core coding serão realizados utilizando Guidance v2.0 (Sela et al. 2015), ancorado por códons usando MAFFT v7.0 (Katoh e Standley, 2013), com guia de 100 árvores pseudoreplicativas. A concatenação do alinhamento múltiplo será realizada por meio do programa FasConCat (Kück e Meusemann, 2010). A correção manual será então realizada em Aliview (Larsson 2014), e sempre que regiões locais forem desalinhasadas usaremos a opção "realinhar bloco selecionado" e atualizaremos as informações sobre início e fim de cada gene. Informações sobre a quantidade de variáveis locais e parcimônias serão obtidas em Mega (Tamura et al. 2013). A fração de polimorfismos de nucleotídeos únicos não sinônimos (nsSNPs), SNPs sinônimos (sSNPs) serão obtidas no Mega.

Características genômicas do conjunto de dados do core coding - O programa Dambe v5.5.29 (Xia 2013) será usado para procurar qualquer padrão de variação no conjunto do genoma entre os diferentes indivíduos. Para cada genoma, obteremos valores para o número efetivo de códons (Nc), uso relativo de códon sinônimo (RSCU), índice de adaptação de códons (CAI), conteúdo de GC e tamanho total do core coding. A RSCU (que é uma medida individual da variabilidade do uso de cada conjunto de códons de um aminoácido) por genoma será obtida somando as variações individuais de aminoácidos e, em seguida, extraindo a raiz quadrada do resultado.

Inferências filogenômicas - Análises filogenéticas serão realizadas por máxima verossimilhança (ML) usando IQTree v1.3.12, fixando *B. pseudomallei* como outgroup (Números de acesso BX571965 e BX571966). com suporte para cada filogenia calculada a partir de 1.000 pseudoreplicatas UFBoot (Minh et al. 2013). Para testar o melhor esquema de particionamento para o core-coding, utilizaremos subconjuntos das três posições dos códons, e, em seguida, será estimado o melhor esquema de particionamento entre eles e o respectivo modelo para cada partição em IQTree. Para testar a variabilidade de taxas ao longo do genoma, além de usar a distribuição típica gama (+G) e a probabilidade de sítios invariáveis (+I), também utilizaremos modelos GTR com distribuições mistas para cada análise, de duas a cinco variáveis por modelo (+MM) que em muitos casos têm melhor ajuste (Venditti et al. 2008).

Comparações adicionais - Os genomas dos isolados aqui estudados, em conjunto com genomas públicos de *B. mallei* serão carregados na plataforma OrthologSorter (Setubal et al. 2018) para comparação usando a ferramenta de alinhamento de ortólogos ali disponível.

Meta 1.2. Padronização de MALDI-TOF para confirmação da identidade de *Burkholderia mallei* isolado em cultura de casos clínicos detectados no Brasil e diferenciação de *B. pseudomallei*.

Após isolamento de *B. mallei* e *B. pseudomallei* nos diferentes laboratórios que contemplam o projeto, as colônias serão fixadas em etanol 70% e remetidas ao BIOPEC, Embrapa Gado de Corte. As proteínas serão extraídas com ácido fórmico 70% e acetonitrila 100%. A ionização por MALDI-TOF será feita com a matriz alfa-ciano-4-hidróxicinâmico e os espectros de massas serão adquiridos em um equipamento MALDI-TOF Autoflex III Smartbeam (Bruker Daltonics), disponível na Embrapa Gado de Corte. Nessa análise as proteínas na faixa de massa entre 2 e 20 KDa são detectadas após ionização, com determinação da razão m/z e intensidade de cada íon.

Identificação por MALDI Biotyper - 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 (Bruker Daltonics), sendo que o algoritmo utilizado pelo programa MALDI Biotyper confrontará os espectros das amostras desconhecidas com um banco de dados de espectros de referência de 5.627 microrganismos, incluindo - se nestes os de 30 espécies diferentes do gênero *Burkholderia*.

Será possível ainda construir dendrogramas e realizar análises de componente principal (PCA) com auxílio do programa de análise estatística Matlab 7.1, incluso no programa Biotyper 2.0.

Plano de ação 2. Aprimoramento do diagnóstico do mormo no Brasil

Meta 2.1 Desenvolvimento de banco referência de amostras clínicas de *Burkholderia mallei*, por meio de infecção experimental de equídeos

Cepas de *Burkholderia* spp. - Serão utilizadas uma ou mais cepas de *B. mallei* autóctone(s), isolada(s) de animais com sorologia positiva, previamente genotipadas e caracterizadas proteomicamente. Os resultados deste trabalho são importantes para assegurar que a infecção seja, de fato, realizada com *B. mallei*, devido à grande proximidade genética desta espécie com *B. pseudomallei*, agente causal de melioidose. Estas amostras de *B. mallei* serão fornecidas pelo MAPA, pelos laboratórios responsáveis pelo isolamento das cepas.

As bactérias serão descongeladas em caldo BHI (brain and heart infusion) e, para a reativação da virulência, serão realizadas três passagens seriadas em cobaios (Lopez et al., 2003). Bactérias isoladas dos cobaios serão incubadas em caldo BHI, congeladas com glicerol a 20%, e mantidas a -80 °C. Após o descongelamento, pré-inóculos serão utilizados para a replicação da cultura em caldo BHI a uma diluição 1/10. Após crescimento overnight as bactérias serão lavadas em com tampão salino-fosfato (PBS, pH 7,2) e ressuspensas em 5 ml de PBS até uma concentração de 1×10^{10} organismos/ml. Os procedimentos serão realizados no laboratório NB3 do BIOPEC da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, sob a coordenação da Dra. Emanuelle Baldo Gaspar, Embrapa Pecuária Sul.

Ensaio de virulência - Serão utilizados camundongos (C57BL/6 ou swiss) para testar a virulência das cepas brasileiras. Estes testes serão conduzidos na Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, sob a coordenação da Dra. Emanuelle Baldo Gaspar, Embrapa Pecuária Sul. Serão testadas cinco cepas, dependendo do resultado da meta de “caracterização molecular e proteômica de cepas de *B. mallei* isoladas no Brasil”. Para cada cepa, cinco animais serão inoculados com cada dose infectante (102; 103) bactérias/animal) (totalizando

50 animais), para observarmos a mortalidade e a carga bacteriana no sangue, pulmão e baço. Os animais serão alocados em gaiolas, cinco animais por gaiola, que ficarão por 15 dias para a ambientação. Durante todo o experimento receberão água e comida ad libitum. No dia zero serão anestesiados e inoculados intratraquealmente por nebulização. Animais com sinais de desconforto moderado a severo serão eutanasiados (Zimmerman et al. 2017).

O objetivo é determinar cepas com virulência intermediária para infectar os equinos, uma vez que cepas muito virulentas poderão provocar a morte destes na fase aguda, enquanto aquelas pouco virulentas podem não causar a doença.

Avaliações com os camundongos - Os camundongos serão monitorados diariamente para se avaliar a taxa de mortalidade. A partir destes resultados serão calculadas as DL50 para cada cepa, usando o software Prism 6 (GraphPad Software Inc.) pelo método Reed e Muench (Reed e Muench 1938). Após 15 ou 60 dias os animais serão eutanasiados e necropsiados para coleta de baço e pulmões. Estes órgãos serão macerados em PBS, será realizada a diluição seriada e amostras serão plaqueadas em ágar sangue para a contagem de unidades formadoras de colônias por grama de tecido. De acordo com Bernhards et al. (2017), ensaios de fenotipagem in vitro podem auxiliar a fenotipagem para a virulência de *B. mallei*, o que é altamente desejável, uma vez que a busca por métodos alternativos para o uso de animais tem sido altamente incentivada pelo CONCEA (Conselho Nacional de Experimentação Animal). Assim, propomos a padronização de alguns métodos de fenotipagem in vitro, para correlacioná-los aos métodos in vivo e para fornecer uma caracterização completa das cepas brasileiras de *B. mallei*:

Ensaio de fagocitose e citotoxicidade - Macrófagos peritoneais de camundongos ou células J774.2 serão cultivadas em meio RPMI suplementado com soro fetal bovino (SFB) e serão replicadas antes de atingir a semi confluência. Estas células serão plaqueadas em placas de 24 poços sobre lamínula de vidro estéril. As cepas de *B. mallei* serão colocadas em contato com as células, na proporção de 10:1, deixadas em contato com as células por 1h a 37 °C. As células serão lavadas com PBS para remover as bactérias não aderidas/fagocitadas e as células contendo as bactérias internalizadas serão incubadas por mais 20h a 37°C em meio contendo canamicina para matar as bactérias extracelulares.

Após este período as células serão:

- Lisadas com água estéril e plaqueadas em ágar sangue para a contagem de UFC de bactérias (Bernhards et al. 2017);
- fixadas com metanol absoluto e coradas com Diff-quick™ ou Giemsa para a contagem das bactérias intracelulares (Bernhards et al. 2017); e
- incubadas com resazurina para avaliação da citotoxicidade (Rolón, Vega, Escario, & Gómez-Barrio, 2006).

Caracterização do LPS - Será realizada por SDS-PAGE e Western blot, de acordo com Bernhards et al. (2017).

Todos os ensaios com *B. mallei* serão realizados no laboratório BIOPEC da Embrapa Gado de Corte.

Experimento nos equinos - Para o cálculo do N amostral, utilizamos uma calculadora disponibilizada no site <http://www.stoa.usp.br>. Considerando uma diferença de 0,12 de absorvância entre animais pré e pós infecção e um desvio padrão de 0,06, o N amostral é de 10 animais considerando-se um erro esperado de 5% e um poder de 98% (figura 1).

O experimento com equinos será conduzido na estação quarentenária de Cananéia, São Paulo (MAPA), por ser um local de acesso restrito a seres humanos e outros animais e por oferecer condições de biossegurança de trabalho.

Os animais serão ambientados pelo menos por 15 dias antes da infecção. No momento da infecção eles serão sedados e anestesiados (xilazina 0,8 mg/kg e quetamina 2,2 mg/kg) e será inoculada por sonda nasogástrica solução de *B. mallei* direto no estômago (4×10^{10} células bacterianas/animal), uma vez que a ingestão de água e alimentos contaminados é a principal forma de contaminação em equinos. Durante o procedimento, serão avaliados a frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal. Após dois anos os animais serão eutanasiados. A eutanásia também será realizada no caso de acidentes com os animais ou caso o desconforto causado pela doença seja muito intenso, conforme laudo do médico veterinário responsável.

Figura 1. Cálculo do N amostras pela planilha disponibilizada em (<http://www.stoa.usp.br>). Neste exemplo utilizamos dados reais de um teste de ELISA padronizado em nosso laboratório.

Análises com as amostras dos equinos - Nos primeiros 15 dias pós infecção, será coletado sangue diariamente dos animais para a obtenção de soro. Depois as coletas ocorrerão a cada semana e, posteriormente, quando os animais já estiverem na fase crônica estabilizada, a cada 15 dias, até dois anos após a infecção. Os ELISAs serão realizados de acordo com a recomendação dos fabricantes (Biovotech, Panaftosa ou Quibasa-Bioclin).

Nos mesmos dias das coletas de sangue, serão aferidos temperatura corporal, frequência cardíaca e respiratória. Eventuais sinais clínicos serão anotados individualmente.

Nos dias zero, sete, 15, 30 e 180 serão coletadas amostras de sangue e soro para:

I) Avaliação de cinética de produção de IgM e IgG;

Após a eutanásia, no final do experimento, serão coletadas amostras de pulmão e baço para:

I. Avaliar a carga bacteriana (semelhante ao que será feito nos camundongos);

e

II. Preparar amostras para histopatologia. Avaliações complementares:

Para evitar o problema de fraudes, em que, soro de animais “doadores”, sabidamente negativos são enviados aos laboratórios no lugar dos soros verdadeiros, procederemos algumas análises extra:

I) Avaliação da exequibilidade dos ELISAs e WBs comerciais (todos os kits comercializados no Brasil, no momento do teste) com plasma e sangue total, em comparação aos dados obtidos com soro equino. Serão utilizados os mesmos protocolos definidos para ELISA e WB pelos laboratórios fornecedores dos kits de diagnóstico. Estes experimentos serão realizados pela Dra. Emanuelle Gaspar, Embrapa Pecuária Sul, na Embrapa Gado de Leite

Todos os experimentos envolvendo animais (cobaias, camundongos e cavalos) serão enviados para a apreciação da Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Gado de Corte. A coleta de material destes animais será feita de acordo com a legislação de bem-estar animal do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (CONCEA/MCTIC). A eutanásia dos animais será realizada, quando necessário, de acordo com o Guia Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia em Animais - Conceitos e Procedimentos Recomendados - do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV/2012), e a Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal CONCEA/MCTIC.

Análises estatísticas - As médias das variáveis-respostas temperatura corporal, frequência cardíaca, respiratória e dosagem de IgM e IgG nos dias zero, sete, 15, 30 e 180 serão comparadas por análise de variância, considerando o delineamento em blocos ao acaso (animais) e suas medidas repetidas no tempo. Como o tempo é uma variável quantitativa, quando pertinente poderão ser definidos modelos matemáticos preditivos baseados na tendência das respostas obtidas ao longo do tempo.

O teste de McNemar será utilizado para avaliar a hipótese nula de homogeneidade entre dois diagnósticos (ELISA ou WB, com ou sem anticoagulantes) realizados em amostras pareadas e o índice Kappa para determinar o grau de concordância entre dois referidos testes não estatisticamente discordantes ($p > 0,05$) (Conger 1980, Fleiss 1971, OIE 2019).

Além dessas medidas, quando pertinente (testes não discordantes, $p > 0,05$), serão apresentados os valores de sensibilidade e especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo (Gardner e Greiner 2006, Banoo et al. 2008).

Todas as análises acima mencionadas serão realizadas com os pacotes R versão R 2.5.1 (R Core Team 2018), "RSurveillance".

Meta 2.2. Determinação do desempenho dos testes ELISA e Western Blotting (WB) para diagnóstico de mormo, disponíveis no Brasil, com banco referência de soros.

Estratégia - Propõe-se realizar uma validação direta comparando as características de desempenho dos testes ELISA e WB com painéis referência de soros, provenientes de equinos, asininos e muares. Este banco de soros será constituído por amostras de animais com quadro clínico de mormo, apresentando lesões sugestivas, isolamento de *B. mallei*, confirmado por PCR, e reação positiva ao teste de fixação de complemento, segundo recomendação da OIE. Também contemplará amostras de soro de equídeos de países livres de mormo, e com reação negativa ao teste de fixação de complemento. Este banco de amostras será fornecido pela Rede Primar, LFDA-MG. Critérios a serem avaliados, segundo OIE (2019).

- Sensibilidade diagnóstica (SD)
- Especificidade diagnóstica (ED)

Cálculo do tamanho da amostra – O número necessário de amostras de soros positivos e negativos para anticorpos contra *B. mallei* dependerá dos valores prováveis de SD e ED do teste candidato e o nível de confiança desejado para as estimativas (Jacobson 1998). Para efeito desta avaliação, serão considerados grau de confiança de 95% e erro de 5% das estimativas de SD e ED.

Ensaio participante no teste – Os procedimentos de execução dos kits ELISA e WB serão realizados conforme descritos nos manuais dos fabricantes. Dessa forma, os manuais (instrutivos de uso) deverão ser enviados juntamente com os kits que serão utilizados para o estudo.

Análises estatísticas - O teste de McNemar será utilizado para avaliar a hipótese nula de homogeneidade entre dois diagnósticos (ELISA e WB) realizados em amostras pareadas). O índice Kappa será usado para determinar o grau de concordância entre dois referidos testes não estatisticamente discordantes ($p > 0,05$) (Conger 1980, Fleiss 1971, OIE 2019).

Esta etapa será realizada pela Dra. Josir Laine Aparecida Veschi, na Embrapa Semiárido.

Meta 2.3. Desenvolvimento de uma metodologia de diagnóstico sorológico para diferenciação entre *Burkholderia mallei* e *B. pseudomallei*.

Burkholderia mallei e *B. pseudomallei* são muito próximas geneticamente e encontrar proteínas com baixa similaridade entre as duas é uma tarefa árdua. Desta forma utilizamos duas metodologias "in silico" distintas, para pré-selecionar alvos. Na primeira destas metodologias, os softwares SignalP 4.0, Cello, PRED-TMBB e TMHMM foram utilizados em um pipeline para analisar todo o proteoma previsto para *B. mallei* para identificar proteínas de membrana externa ou secretadas, que apresentassem folha β -pregueada e que não apresentassem α -hélice, pois este tipo de proteína tem maior chance de ser reconhecida pelo sistema imunológico, uma vez que, ao menos teoricamente, fica exposto a este. A partir desta metodologia foram separadas as 30 proteínas mais bem ranqueadas e comparamos, pelo BlastP com *B. pseudomallei*. Infelizmente, mas não surpreendentemente, todas apresentaram similaridade de pelo menos 99% entre as espécies, o que nos fez mudar de estratégia.

Assim, mais seis proteínas foram selecionadas por revisão de literatura e apenas uma delas se encaixou no perfil que queríamos, isto é, alta similaridade entre as bactérias da mesma espécie, incluindo cepas brasileiras, e baixa similaridade entre *B. mallei* e *B. pseudomallei*. Estas análises de similaridade foram realizadas inicialmente pela ferramenta on-line BlastP e, em seguida, no software MegaX. A proteína selecionada a partir dos nossos parâmetros foi *Burkholderia intracellular motility A* (BimA).

A partir da análise de similaridade, observamos a existência de apenas uma isoforma de BimA em *B. mallei* (BimAm) e duas isoformas em *B. pseudomallei* (BimAm e BimAp). Embora BimAm possua elevada similaridade nas duas espécies avaliadas, em BimAp a similaridade da região N-terminal é muito baixa com BimAm, fazendo desta região desta proteína um bom alvo para a construção de um teste de diagnóstico diferencial para as duas espécies.

Desta forma, conclui-se que podemos propor um teste de diagnóstico confirmatório, contendo porções truncadas de BimAp, sendo que a porção C-terminal será provavelmente reconhecida por todos os animais positivos, enquanto espera-se que a porção N-terminal só seja reconhecida por animais eventualmente infectados por *B. pseudomallei*.

O gene sintético selecionado já foi adquirido, de modo a conter códons otimizados para expressão em *E. coli* e porções ricas em epítomos. Os plasmídeos recombinantes contendo genes sintéticos serão utilizados para transformar linhagens de *E. coli* (TOP10) para estoque e purificação de plasmídeo pelo uso de colunas de extração mini ou midi preparação (Qiagen). Estes experimentos, coordenados pela Dra. Emanuelle Gaspar, serão realizados na Embrapa Gado de Corte, com o auxílio da Dra. Lenita Ramires dos Santos. A autorização para realização de experimentos com OGM já foi solicitada à CTNBio. Para a expressão do gene de *E. coli* transformadas com os plasmídeos recombinantes, cultivo em pequena escala será realizado para determinação da dose-resposta à indução com IPTG e cinética de expressão em meio LB, a 37°C, sob agitação constante. A produção da proteína será avaliada em SDS-PAGE. Após essa determinação, pelo menos 1 litro de cultivo será feito para produção e purificação da proteína. Na dependência de sua solubilidade ou insolubilidade, o sedimento bacteriano será ou não tratado com agente desnaturante (uréia ou guanidina) e seguirá o protocolo de purificação para coluna de sepharose (histrap). Na purificação, será também determinada a concentração ideal para ligação e eluição com imidazol. Todas as avaliações de qualidade serão feitas por SDS-PAGE e quantificação pelo Quibt ou Bradford.

Após purificação das proteínas, estas serão testadas quanto ao seu potencial diagnóstico com soro de animais sabidamente positivos ou negativos para mormo, por dot-blot. Resumidamente, 10 µg de proteína serão depositados sobre membrana de nitrocelulose até que esteja seca. As membranas serão incubadas com diferentes diluições de soros equinos, sabidamente positivo ou negativo. em seguida serão incubadas com anticorpo anti-IgG equina conjugado com HRP. Na última etapa, as membranas serão reveladas com H₂O₂ e um agente emissor de quimiluminescência (Amersham ECL). A emissão de luz será detectada em um fotodocumentador equipado com leitor de quimiluminescência (Alliance 2.7 UVTEC).

Plano de ação 3. Desenvolvimento, padronização e validação de ensaios sorológicos a campo, para detecção de patógenos de interesse para a defesa sanitária animal

Meta 3.1: Estabelecimento de bancos de soro de referência para anticorpos contra o vírus da febre aftosa, *Mycobacterium bovis* e *Senecavirus A*.

A coordenação desta meta será da Dra. Josir Laine Aparecida Veschi, da Embrapa Semiárido. Os soros a serem utilizados neste plano de ação serão procedentes das coleções das unidades da Embrapa envolvidas e dos LFDAs. Para as ações com tuberculose bovina, serão utilizadas amostras de soro de bovinos com teste cervical comparativo positivos, que apresentarem lesões sugestivas de tuberculose confirmadas por cultivo e PCR. Amostras de rebanhos certificados livres de tuberculose serão usadas para os ensaios de especificidade. Para os ensaios com febre aftosa, serão utilizadas amostras de soro de bovinos provenientes do foco de febre aftosa no Brasil, reagentes aos testes referência ELISA 3ABC/EITB. Para determinação da especificidade diagnóstica, serão avaliadas 500 amostras de bovinos não reagentes nos testes oficiais, de região livre sem vacinação. Para *Senecavirus A*, serão utilizados soros de rebanhos suínos livres do vírus (RT-PCR negativo e ausência histórico de lesões ou relatos do Serviço Oficial), e soros de rebanhos infectados, sendo avaliados dois subgrupos: animais com RT-PCR e animais com teste molecular negativo.

Meta 3.2 Desenvolvimento de protótipos de testes de fluxo lateral para detecção de anticorpos contra o vírus da febre aftosa, *Mycobacterium bovis* e *Senecavirus A*.

Como antígenos principais para imobilização na janela teste:

- Febre aftosa - 3ABC e 3AB (Malirat et al. 1998)
- Tuberculose bovina - químera de ESAT-6/MPB70/MPB83 (Souza et al. 2019)
- *Senecavirus* - SVA VP1 (rVP1) (Gimenez-Riola et al. 2016, Goolia et al. 2017).

Haverá também prospecção de novos antígenos, por meio de uma intensa busca na literatura para que seja encontrado o elemento com maior especificidade e sensibilidade de detecção. Durante a prospecção serão realizados testes com os antígenos em questão para avaliação de desempenho sobre o pad.

Os genes sintéticos codificantes para estas proteínas serão ligados a plasmídeos de expressão, os quais serão utilizados para transformação de cepas comerciais de *E. coli*. Estes experimentos serão coordenados pela Dra. Lea Andri, na Embrapa Pecuária Sudeste. Serão testados diferentes plasmídeos de expressão e diferentes cepas de *E. coli*, de forma a obter melhor rendimento de expressão. As proteínas recombinantes serão purificadas em coluna de agarose/níquel, em aparelho AKTA, e sua pureza atestada por eletroforese em gel de poliacrilamida e MALDI-TOF. Como conjugado, será utilizada proteína G (Sigma) ligado a ouro coloidal. Na janela controle serão utilizadas imunoglobulinas bovinas ou suínas, purificadas por precipitação com sulfato de amônia. Os antígenos serão dispensados usando o dispensador Imagen Isoflow® (Arista Biologicals, EUA), em duas linhas paralelas, em membranas de nitrocelulose de diversas porosidades para padronização das melhores condições de deposição, sendo elas: 1) NC Membrana tipo laminada CNPF-SN12-L2-H50, 8µm, 75mm x 260mm;

2) NC Membrana tipo laminada CNPF-SN12-L2-H50, 10µm, 75mm x 260mm, 3) NC Membrana tipo laminada CNPC-SS12-L2-H50, 12µm, 75mm x

260mm; 4) NC Membrana tipo laminada CNPC-SS12-L2-H50, 15µm, 75mm x 260mm, 5) NC Membrana tipo laminada 70CNPH-N-SS40-L2-H50, 75mm x 260mm; 6) NC Membrana tipo laminada 90CNPH-N-SS40-L2-H50, 75mm x 260mm; 7) NC Membrana tipo laminada 150CNPH-N-SS40-L2-H50, 75mm x

260mm; 8) NC Membrana tipo laminada 200CNPH-N-SS40-L2-H50, 75mm x 260mm (MDI Membrane, Advanced Microdevices, India). O dispositivo de imunocromatografia será montado da seguinte forma: membrana de nitrocelulose, almofada com conjugado, almofada para amostra e almofada absorvente. Um volume de 200 µl de diferentes soros diluídos a 1/50 em PBS será aplicado à almofada de amostra. Os resultados serão interpretados de dois a quinze minutos após a adição da amostra

Nas próximas metas, serão realizados procedimentos de padronização do teste, visando a otimização dos reagentes; sensibilidade analítica, especificidade analítica, sensibilidade clínica, especificidade clínica e reprodutibilidade, contemplando assim, até a fase 3 do Manual de Princípios e Métodos de Validação de Ensaios de Diagnóstico para Doenças Infecciosas da OIE (OIE 2019).

Meta 3.3 Determinação do desempenho de testes de fluxo lateral para detecção de anticorpos contra o vírus da febre aftosa, mediante ensaios pré-clínicos.

Com relação à especificidade analítica, a seletividade do método será obtida por meio da avaliação de 50 soros de bovinos repetidamente imunizados com vacina comercial contra febre aftosa, conforme recomendação do MAPA. A exclusividade do método será resultante da avaliação de soros de bovinos e suínos com sorologia positiva para enfermidades vesiculares confundíveis com febre aftosa, sendo especialmente estomatite vesicular, rinotraqueíte infecciosa bovina, diarreia viral bovina-doença das mucosas, febre catarral maligna, língua azul, e estomatite vesicular causada por Senecavirus A. A inclusividade do teste será avaliada com soros de bovinos infectados por diferentes sorotipos do vírus da febre aftosa detectados no Brasil.

A determinação da sensibilidade analítica será feita pela titulação de soro referência OIE, usando diluições seriadas em base decimal, sendo a última diluição mostrando 100% de resposta aceita como uma estimativa conservadora do limite inferior de detecção. Em experimento secundário, será feita uma estimativa mais precisa, testando intervalos mais estreitos no esquema de diluição com interesse na região entre 100% e 0%, segundo avaliação estatística de dados de limite de detecção, do Manual Terrestre, Capítulo 3.6.5 (OIE 2014).

Para determinação da sensibilidade diagnóstica do teste serão testadas 250 amostras de soro de bovinos provenientes do foco de febre aftosa de 2006, do Estado de Mato Grosso do Sul, reagentes aos testes referência ELISA

3ABC/EITB. Para determinação da especificidade diagnóstica, serão avaliadas

500 amostras de bovinos não reagentes nos testes oficiais, do Estado de Santa Catarina. A estimativa da área sob a curva ROC será determinada segundo Greiner et al. (2000); Zweig e Campbell (1993).

Para determinação da repetibilidade, três amostras de soro de bovinos positivos aos ELISA 3ABC/EITB serão aliqüotadas em réplicas idênticas da amostra original. Cada réplica será então executada em todas as etapas do ensaio, incluindo a criação da diluição de trabalho, como se fosse uma amostra de teste derivada da população visada pelo ensaio. A variação entre as execuções será determinada usando as mesmas amostras em várias repetições envolvendo dois operadores, realizadas em cinco dias. Para avaliar a reprodutibilidade do ensaio, três laboratórios receberão um painel de 20 amostras referência, para teste cego.

Meta 3.4 Determinação do desempenho de testes de fluxo lateral para detecção de anticorpos contra *Mycobacterium bovis*, mediante ensaios pré-clínicos.

Para a validação do teste de imunocromatografia para tuberculose bovina, os soros a serem utilizados serão procedentes do banco de amostras da Embrapa Gado de Corte e Laboratórios Federais de Defesa Agropecuária/MAPA.

Com relação à especificidade analítica, a exclusividade do método será resultante da avaliação de 50 amostras de soro de bovinos reagentes ao PPD de *Mycobacterium avium* e negativos ao PPD de *M. bovis* no teste cervical comparativo. A inclusividade do teste será avaliada com soros de bovinos infectados por diferentes genótipos de *M. bovis*, definidos por spoligotipagem e/ou sequenciamento genômico.

A determinação da sensibilidade analítica será feita pela titulação de soro referência OIE, usando diluições seriadas em base decimal, sendo a última diluição representando 100% de resposta aceita como uma estimativa conservadora do limite inferior de detecção. Em experimento secundário, será feita uma estimativa mais restrigente, testando intervalos mais estreitos no esquema de diluição com interesse na região entre 100% e 0%, segundo avaliação estatística de dados de limite de detecção, do Manual Terrestre, Capítulo 3.6.5 (OIE, 2014).

Para determinação da sensibilidade diagnóstica do teste, serão testadas 150 amostras de soro de bovinos positivos ao TCC, com lesões sugestivas de tuberculose, confirmadas por cultura e PCR para região que flanqueia RD4, segundo protocolo usando no LFDA/MG (Sales et al. 2014). Para determinação da especificidade diagnóstica serão avaliados soros de 150 animais negativos ao TCC, de rebanhos certificados livres de tuberculose, segundo os critérios do PNCEBT. A estimativa da área sob a curva ROC será determinada segundo Greiner et al. (2000), Zweig e Campbell (1993).

Para avaliação da capacidade do teste em detectar animais falso-negativos ao TCC, serão testadas 24 amostras de soros de bovinos com lesões sugestivas de tuberculose, confirmadas por cultura e PCR, porém negativos ao TCC.

Para determinação da repetibilidade, três amostras de soro de bovinos positivos à cultura para *M. bovis* serão aliqüotadas em réplicas idênticas da amostra original. Cada réplica será então executada em todas as etapas do ensaio, incluindo a criação da diluição de trabalho, como se fosse uma amostra de teste derivada da população visada pelo ensaio. A variação entre as execuções será determinada usando as mesmas amostras em várias repetições envolvendo dois operadores, realizadas em cinco dias. Para avaliar a reprodutibilidade do ensaio, três laboratórios receberão um painel de 20 amostras de soro referência, para teste cego.

Meta 3.5 Determinação do desempenho de testes de fluxo lateral para detecção de anticorpos contra o Senecavirus A, mediante ensaios pré-clínicos.

Para a padronização inicial do teste, no mínimo, 140 amostras compostas de soros de animais negativos e positivos serão utilizadas:

Grupo A composto por 46 animais SVA-negativos de um rebanho livre de SVA. O Grupo B será composto por 47 animais SVA positivos de três rebanhos da mesma região. O Grupo C será composto por 47 animais SVA negativos dos mesmos rebanhos infectados (do rebanho de

animais do Grupo B). Os critérios de inclusão dos animais do grupo A serão o teste de RT-PCR negativo para SVA e histórico do rebanho (ausência de lesões ou relatos do Serviço Oficial) e os critérios de inclusão para os grupos B e C serão a realização de RT-PCR para a SVA e histórico da granja (Gava et al. 2016). Serão determinados a sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivo e negativo.

A partir do antígeno e banco de soros que serão obtidos neste plano de ação, testes sorológicos em plataforma de imunoadsorção enzimática também poderão ser desenvolvidas no futuro, caso haja demanda.

Referências

- Atuman YJ, Kudi CA, Abdu PA, Okubanjo OO, Abubakar A, Wungak Y, Ularamu HG. Seroprevalence of Foot and Mouth Disease Virus Infection in Some Wildlife and Cattle in Bauchi State, Nigeria. *Vet Med Int.* 2020 Mar 18; 2020:3642793. doi: 10.1155/2020/3642793. PMID: 32257095; PMCID: PMC7104331.
- Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, Lesin VM, Nikolenko SI, Pham S, Prjibelski AD, Pyshkin AV, Sirotkin AV, Vyahhi N, Tesler G, Alekseyev MA, Pevzner PA. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol.* 2012 May;19(5):455-77. doi: 10.1089/cmb.2012.0021. Epub 2012 Apr 16. PMID: 22506599; PMCID: PMC3342519.
- Banoo S, Bell D, Bossuyt P, Herring A, Mabey D, Poole F, Smith PG, Sriram N, Wongsrichanalai C, Linke R, O'Brien R, Perkins M, Cunningham J, Matsoso P, Nathanson CM, Olliaro P, Peeling RW, Ramsay A. Evaluation of diagnostic tests for infectious diseases: general principles. *Nat. Rev. Microbiol.* 2008. <https://doi.org/Doi.10.1038/Nrmicro1523>.
- Becker, D. L., Ciacci-Zanella, J. R.; Corbellini, Luis G.; Borba, M. R. Analysis of the Performance of the Animal Health Surveillance System in the Outbreak of Swine Vesicular Disease in the State of Santa Catarina-Brazil. *ACTA SCIENTIAE VETERINARIAE (ONLINE)*, v. 48, p. 1-9, 2020.
- Berhards RC, Cote CK, Amemiya K, Waag DM, Klimko CP, Worsham PL, Welkos SL. Characterization of in vitro phenotypes of *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei* strains potentially associated with persistent infection in mice. *Archives of Microbiology*, 2017, 199(2), 277–301. <https://doi.org/10.1007/s00203-016-1303-8>
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Erradicação e Prevenção da Febre Aftosa – PNEFA. Plano Estratégico 2017 – 2026. Atualização 2019. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saudeanimal/febre-aftosa/vacinacao/Plano_estrategico_versao_2019pt.pdf
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Vigilância à Febre Aftosa. 2017. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saudeanimal/febre-aftosa/combate-febre-aftosa>.
- Casal C., Díez-Guerrier A., Álvarez J., Rodriguez-Campos S., Mateos A., Linscott R., Martel E., Lawrence J. C., Whelan C., Clarke J., O'Brien A., Domínguez L., Aranaz A. 2014. Strategic use of serology for the diagnosis of bovine tuberculosis after intradermal skin testing. *Vet. Microbiol.* 170: 342–351. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.02.036
- Casal C., Infantes J. A., Rivalde M. A., Díez-Guerrier A., Domínguez M., Moreno I., Romero B., de Juan L., Sáez J. L., Juste R., Gortázar C., Domínguez L., Bezos J. 2017. Antibody detection tests improve the sensitivity of tuberculosis diagnosis in cattle. *Res. Vet. Sci.* 112: 214–221. doi: 10.1016/j.rvsc.2017.05.012 Ciacci-Zanella, J. R.; Mores, N.; Barcellos, D. E. S. N.. Principais ameaças sanitárias endêmicas da cadeia produtiva de suínos no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira (Online)*, v. 51, p. 443-453, 2016;
- Ciacci-Zanella, J. R.; Mores, N. Perdas neonatais epidêmicas transientes e doença vesicular associada com infecção com o Seneca valley virus (Senecavirus A). *Concordia, SC: Embrapa Suínos e Aves*, 2015 (Booklet - Instrução Técnica para o Suinocultor).
- Contreras-Moreira B, Vinuesa P. GET_HOMOLOGUES, a versatile software package for scalable and robust microbial pangenome analysis. *Appl Environ Microbiol.* 2013 Dec;79(24):7696-701. doi: 10.1128/AEM.02411-13. Epub 2013 Oct 4. PMID: 24096415; PMCID: PMC3837814.
- Conger AJ. Integration and generalization of kappas for multiple raters. *Psychol. Bull.* 1980, 88, 322–328. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1037/00332909.88.2.322>.
- Crowther J. The ELISA guidebook. 2009 (No. QP519. 9. E48 C76).

Falcão MVD, Silveira PPM, Santana VLA, da Rocha LO, Chaves KP, Mota RA. First record of *Burkholderia mallei* Turkey 10 strain originating from glanderous horses from Brazil. *Braz J Microbiol.* 2019 Oct;50(4):1125-1127. doi: 10.1007/s42770-019-00113-2. Epub 2019 Jul 18. PMID: 31321739; PMCID: PMC6863307.

Fieni F., Grant C., Gard-Schnuelle J., Perry G., Wrenzycki C., Blondin P. 2016. 107 Research priorities for safe sanitary trade of embryo and semen. *Reprod. Fertil. Dev.* 29: 161–162. doi: 10.1071/RDv29n1Ab107

Fleiss JL. Measuring nominal scale agreement among many raters. *Psychol. Bull.* 1971, 76, 378–382. <https://doi.org/doi:10.1037/h0031619>

Gardner IA, Greiner M. Receiver-operating characteristic curves and likelihood ratios: Improvements over traditional methods for the evaluation and application of veterinary clinical pathology tests. *Vet. Clin. Pathol.* 2006, 35, 8–17. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00082.x>

Gava, D.; Haach, V.; Caron, L.; Mores, M. Z. ; Mores, N.; Grings, V. H. ; CiacciZanella, J. R.; Schaefer, R.. Senecavirus A outbreak affecting piglets and sows in Southern Brazil. In: 24th International Pig Veterinary Society Congress (IPVS) & 8th European Symposium of Porcine Health Management (ESPHM), 2016,

Dublin. 24th International Pig Veterinary Society Congress (IPVS) & 8th European Symposium of Porcine Health Management (ESPHM) - Abstracts Book. Dublin: IPVS, 2016. v. 1. p. 456-456.

Gimenez-Lirola, L. G., Rademacher, C., Linhares, D., Harmon, K., Rotolo, M., Sun, Y., & Pinêyro, P. Serological and molecular detection of Senecavirus A associated with an outbreak of swine idiopathic vesicular disease and neonatal mortality. *Journal of clinical microbiology*, 2016, 54(8), 2082-2089.

Girault G, Woudstra C, Martin B, Vorimore F, de Assis Santana VL, Fach P, ... & Laroucau K. First draft genome for a *Burkholderia mallei* isolate originating from a glanderous mule from Brazil. *Genome announcements.* 2017 5(28).

Goolia, M., Vannucci, F., Yang, M., Patnayak, D., Babiuk, S., & Nfon, C.

K. Validation of a competitive ELISA and a virus neutralization test for the detection and confirmation of antibodies to Senecavirus A in swine sera. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2017. 29(2), 250-253.

Greiner M, Pfeiffer D, Smith RD. Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Prev Vet Med.* 2000 May 30;45(1-2):23-41. doi: 10.1016/s0167-5877(00)00115-x. PMID: 10802332.

Hornstra H, Pearson T, Georgia S, Liguori A, Dale J, Price E, O'Neill M, Deshazer D, Muhammad G, Saqib M, Naureen A, Keim P. Molecular epidemiology of glanders, Pakistan. *Emerg Infect Dis.* 2009 Dec;15(12):2036-9. doi:

10.3201/eid1512.090738. PMID: 19961695; PMCID: PMC3044535.

Huang TS, Lee CC, Tu HZ, & Lee SSJ. Rapid identification of mycobacteria from positive MGIT broths of primary cultures by MALDI-TOF mass spectrometry. 2018 *PloS one.* 2018 13(2), e0192291.

Katoh K, Standley DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol.* 2013 Apr;30(4):77280. doi: 10.1093/molbev/mst010. Epub 2013 Jan 16. PMID: 23329690; PMCID: PMC3603318.

Knight-Jones TJ, Robinson L, Charleston B, Rodriguez LL, Gay CG, Sumption

KJ, Vosloo W. Global Foot-and-Mouth Disease Research Update and Gap Analysis: 4 - Diagnostics. *Transbound Emerg Dis.* 2016 Jun;63 Suppl 1:42-8. doi:

10.1111/tbed.12523. PMID: 27320165.

Koczula KM, Gallotta A. Lateral flow assays. *Essays Biochem.* 2016 Jun 30;60(1):111-20. doi: 10.1042/EBC20150012. PMID: 27365041; PMCID: PMC4986465.

Kück P, Meusemann K. FASconCAT: Convenient handling of data matrices. *Mol Phylogenet Evol.* 2010 Sep;56(3):1115-8. doi: 10.1016/j.ympev.2010.04.024. Epub 2010 Apr 21. PMID: 20416383.

Lahuerta-Marin A., McNair J., Skuce R., McBride S., Allen M., Strain S. A. J., Menzies F. D., McDowell S. J. W., Byrne A. W. 2016. Risk factors for failure to detect bovine tuberculosis in cattle from infected herds across Northern Ireland (2004–2010). *Res. Vet. Sci.* 107: 233–239. doi: 10.1016/j.rvsc.2016.06.014

Laroucau K, Lucia de Assis Santana V, Girault G, Martin B, Miranda da Silveira PP, Brasil Machado M, Joseph M, Wernery R, Wernery U, Zientara S, Madani N. First molecular characterisation of a Brazilian *Burkholderia mallei* strain isolated from a mule in 2016. *Infect Genet Evol.* 2018 Jan;57: 117-120. doi:

10.1016/j.meegid.2017.11.014. Epub 2017 Nov 13. PMID: 29146548.

Larsson A. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics.* 2014 Nov 15;30(22):3276-8. doi:

10.1093/bioinformatics/btu531. Epub 2014 Aug 5. PMID: 25095880; PMCID: PMC4221126.

Leme, R.; et al. Zotti, E.; Alcantara, B.K.; Oliveira, M.V.; Freitas, L.A.; Alfieri, A.F.;

Alfieri, A.A. Senecavirus A: an emerging vesicular infection in Brazilian pig herds. *Transboundary and Emerging Diseases*, v.62, p.603-611, 2015. DOI:

10.1111/tbed.12430.

Lopez J, Capps J, Wilhelmsen C, Moore R, Kubay J, St. Jacques M, Woods.

Characterization of experimental equine glanders. *Microbes and Infection*, 2003, 5(12), 1125–1131.

<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2003.07.004>

Lyashchenko K. P., Pollock J. M., Colangeli R., Gennaro M. L. 1998. Diversity of antigen recognition by serum antibodies in experimental bovine tuberculosis. *Infect. Immun.* 66: 5344–5349.

Malirat V, Neitzert E, Bergmann IE, Maradei E, Beck E. Detection of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus by means of an indirect ELISA test using bioengineered nonstructural polyprotein 3ABC. *Vet Q.* 1998;20 Suppl 2: S24-6. doi: 10.1080/01652176.1998.9694958. PMID: 9652059.

Minh BQ, Nguyen MA, von Haeseler A. Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Mol Biol Evol.* 2013 May;30(5):1188-95. doi: 10.1093/molbev/mst024. Epub 2013 Feb 15. PMID: 23418397; PMCID: PMC3670741.

Núñez-García J., Downs S. H., Parry J. E., Abernethy D. A., Broughan J. M.,

Cameron A. R., Cook A. J., de la Rúa-Domenech R., Goodchild A. V., Gunn J.,

More S. J., Rhodes S., Rolfe S., Sharp M., Upton P. A., Vordermeier H. M.,

Watson E., Welsh M., Whelan A. O., Woolliams J. A., Clifton-Hadley R. S., Greiner M. 2018. Meta-analyses of the sensitivity and specificity of ante-mortem and post-mortem diagnostic tests for bovine tuberculosis in the U.K. and Ireland. *Prev. Vet. Med.* 153: 94–107. doi: 10.1016/j.prevetmed.2017.02.017

OIE. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. OIE Terrestrial Manual, 2019. Disponível em: <https://www.oie.int/standardsetting/terrestrial-manual/>

OIE Terrestrial Manual. 2018. Chapter 3.5.11 Glanders and Meliodosis.

Disponível

em: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.05.11_GLANDERS.pdf

OIE Validations Recommendations 2014. Chapter 3.6.5. Statistical approaches to validation. Disponível em: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/current/3.6.05_STATISTICAL_VALIDATION.pdf

Olea-Popelka F., Muwonge A., Perera A., Dean A. S., Mumford E., Erlacher-Vindel E., Forcella S., Silk B. J., Ditiu L., El Idrissi A., Raviglione M., Cosivi O.,

LoBue P., Fujiwara P. I. 2017. Zoonotic tuberculosis in human beings caused by *Mycobacterium bovis*-a call for action. *Lancet Infect. Dis.* 17: e21–e25. doi: 10.1016/S1473-3099(16)30139-6

Panaftosa. (2018). Reference: AFT - SPV/2018/001 - Ing report on the performance of the ELISA - BKM16 test. (Reference: AFT-SPV/2018/001-ING REPORT. 2018 1–19.

Parks DH, Imelfort M, Skennerton CT, Hugenholtz P, Tyson GW. CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Genome Res.* 2015 Jul;25(7):1043-55. doi:

10.1101/gr.186072.114. Epub 2015 May 14. PMID: 25977477; PMCID: PMC4484387

Patel R. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. *Clinical chemistry.* 2015 61(1), 100-111.

Pega J, Bucafusco D, Di Giacomo S, Schammas JM, Malacari D, Capozzo AV,

Arzt J, Pérez-Beascoechea C, Maradei E, Rodríguez LL, Borca MV, Pérez-Filgueira M. Early adaptive immune responses in the respiratory tract of foot-and-mouth disease virus-infected cattle. *J Virol.* 2013 Mar;87(5):2489-95. doi: 10.1128/JVI.02879-12. Epub 2012 Dec 19. PMID: 23255811; PMCID: PMC3571376.

Pesciaroli M., Alvarez J., Boniotti M. B., Cagiola M., Di Marco V., Marianelli C., Pacciarini M., Pasquali P. 2014. Tuberculosis in domestic animal species. *Res. Vet. Sci.* 97 Suppl: S78–S85. doi: 10.1016/j.rvsc.2014.05.015

R Core Team. A language and environment for statistical computing, Vienna, Austria 2018

Rolim DB, Lima RXR, Ribeiro AKC, Colares RM, Lima LDQ, Rodríguez-Morales AJ, Montúfar FE, Dance DAB. Melioidosis in South America. *Trop Med Infect Dis*.

2018 Jun 5;3(2):60. doi: 10.3390/tropicalmed3020060. PMID: 30274456; PMCID: PMC6073846.

Rolón M, Vega C, Escario JA, & Gómez-Barrio A. Development of resazurin microtiter assay for drug sensibility testing of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes.

Parasitology Research. 2006, 99(2), 103–107. <https://doi.org/10.1007/s00436006-0126-y>

Sales ML, Fonseca AA Jr, Sales EB, Cottorello AC, Issa MA, Hodon MA, Soares Filho PM, Ramalho AK, Silva MR, Lage AP, Heinemann MB. Evaluation of molecular markers for the diagnosis of *Mycobacterium bovis*. *Folia Microbiol (Praha)*. 2014 Sep;59(5):433-8. doi: 10.1007/s12223-014-0317-3. Epub 2014 Apr 18. PMID: 24744007.

Scholz HC, Pearson T, Hornstra H, Projahn M, Terzioglu R, Wernery R, Georgi E, Riehm JM, Wagner DM, Keim PS, Joseph M, Johnson B, Kinne J, Jose S, Hepp CM, Witte A, Wernery U. Genotyping of *Burkholderia mallei* from an outbreak of glanders in Bahrain suggests multiple introduction events. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014 Sep 25;8(9):e3195. doi: 10.1371/journal.pntd.0003195. PMID: 25255232; PMCID: PMC4177748.

Sela I, Ashkenazy H, Katoh K, Pupko T. GUIDANCE2: accurate detection of unreliable alignment regions accounting for the uncertainty of multiple parameters. *Nucleic Acids Res*. 2015 Jul 1;43(W1): W7-14. doi:

10.1093/nar/gkv318. Epub 2015 Apr 16. PMID: 25883146; PMCID: PMC4489236.

Silva KP, Mota RA, Cunha AP, Silva LB, Leal NC, Cavalcante YV, ... & Freitas NS. Caracterização fenotípica e molecular de amostras de *Burkholderia mallei* isoladas na Região Nordeste do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 2009 29(5), 439-444.

Souza I. I., Melo E. S., Ramos C. A., Farias T. A., Osório A. L., Jorge K. S., Vidal C. E., Silva A. S., Silva M. R., Pellegrin A. O., Araújo F. R. 2012. Screening of recombinant proteins as antigens in indirect ELISA for diagnosis of bovine tuberculosis. *Springerplus* 1: 77. doi: 10.1186/2193-1801-1-77

Souza IIF, Rodrigues RA, Gonçalves Jorge KS, Silva MR, Lilenbaum W, Vidal CES, Etges RN, Kostovic M, Araújo FR. ELISA using a recombinant chimera of ESAT-6/MPB70/MPB83 for *Mycobacterium bovis* diagnosis in naturally infected cattle. *J Vet Med Sci*. 2019 Jan 8;81(1):9-14. doi: 10.1292/jvms.18-0364.

Sriram R, Sahni AK, Dudhat VL, & Pujahari AK. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for rapid identification of *Mycobacterium abscessus*. *Medical Journal Armed Forces India*. 2018 74(1), 22-27.

Stenfeldt C, Pacheco JM, Singanallur NB, Vosloo W, Rodriguez LL, Arzt J. Virulence beneath the fleece; a tale of foot-and-mouth disease virus pathogenesis in sheep. *PLoS One*. 2019 Dec 31;14(12): e0227061. doi:

10.1371/journal.pone.0227061. PMID: 31891626; PMCID: PMC6938329.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipiski A, Kumar S. MEGA6: Molecular

Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*. 2013 Dec;30(12):27259. doi: 10.1093/molbev/mst197. Epub 2013 Oct 16. PMID: 24132122; PMCID: PMC3840312.

Tanpiboonsak S, Paemane A, Bunyarataphan S, Tungpradabkul S. PCR-RFLP based differentiation of *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*. *Mol Cell Probes*. 2004 Apr;18(2):97-101. doi: 10.1016/j.mcp.2003.09.010. PMID: 15051118.

Vannucci, F.A.; et al. Linhares, D.C.L.; Barcellos, D.E.S.N.; Lam, H.C.; Collins, J.; Marthaler, D. Identification and complete genome of Seneca Valley virus in vesicular fluid and sera of pigs affected with idiopathic vesicular disease, Brazil. *Transboundary and Emerging Diseases*, v.62, p.589-593, 2015. DOI:

10.1111/tbed.12410.

Venditti C, Meade A, Pagel M. Phylogenetic mixture models can reduce node density artifacts. *Syst Biol*. 2008 Apr;57(2):286-93. doi:

10.1080/10635150802044045. PMID: 18432549.

Volpe-Chaves CE, Rodrigues ACS, Lacerda MLGG, Oliveira CTF, Castilho SB, Franciscato C, Santos ICO, Assef APDC, Roeber L, Oliveira SMDVL, Paniago AMM. Melioidosis, an emerging infectious disease in the Midwest Brazil: A case report. *Medicine (Baltimore)*. 2019 Apr;98(16): e15235. doi: 10.1097/MD.00000000000015235. PMID: 31008955; PMCID: PMC6494395.

Wadhwa A., Johnson R. E., Eda K., Waters W. R., Palmer M. V., Bannantine J. P., Eda S. 2014. Evaluation of ethanol vortex ELISA for detection of bovine tuberculosis in cattle and deer. *BMC Vet. Res*. 10: 147. doi: 10.1186/1746-614810-147

Waters W. R., Palmer M. V., Thacker T. C., Bannantine J. P., Vordermeier H. M.,

Hewinson R. G., Greenwald R., Esfandiari J., McNair J., Pollock J. M., Andersen

P., Lyashchenko K. P. 2006. Early antibody responses to experimental

Mycobacterium bovis infection of cattle. Clin. Vaccine Immunol. 13: 648–654. doi: 10.1128/CVI.00061-06

Wernery U, Rodriguez Caveney M, Wernery R, Raghavan R, Laroucau K, Syriac G, Thomas SM, John J, Joseph M, Jose S, Joseph S, Woo P. Evaluation of serological responses in horses challenged with Burkholderia pseudomallei using current diagnostic tests for glanders. Vet Ital. 2019 Sep 30;55(3):261-267. doi:

10.12834/VetIt.1701.9026.2. PMID: 31599551.

Wong CL, Yong CY, Ong HK, Ho KL, Tan WS. Advances in the Diagnosis of Foot-and-Mouth Disease. Front Vet Sci. 2020 Aug 21; 7:477. doi:

10.3389/fvets.2020.00477. PMID: 32974392; PMCID: PMC7473413.

Xia X. DAMBE5: a comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. Mol Biol Evol. 2013 Jul;30(7):1720-8. doi:

10.1093/molbev/mst064. Epub 2013 Apr 5. PMID: 23564938; PMCID: PMC3684854.

Yang M, Mudabuka B, Dueck C, Xu W, Masisi K, Fana EM, Mpfu C, Nfon C. Development of two rapid lateral flow test strips for detection of foot-and-mouth disease virus SAT 1 and SAT 3. J Virol Methods. 2020 Sep 5:113967. doi:

10.1016/j.jviromet.2020.113967. Epub ahead of print. PMID: 328985

Zimmerman SM, Duke JS, Jelesijevic TP, Michel F, Lafontaine ER, Hogan RJ. Antibodies against In Vivo-Expressed Antigens Are Sufficient to Protect against Lethal Aerosol Infection with *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*.

Infection and Immunity. 2017, 85(8), e00102-17. <https://doi.org/10.1128/IAI.00102-17>

Zweig MH, Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. Clin Chem. 1993 Apr;39(4):561-77. Erratum in: Clin Chem 1993 Aug;39(8):1589. PMID: 8472349.

Contrapartidas da Embrapa

Para condução das atividades, as unidades da Embrapa envolvidas dispõem da seguinte infraestrutura de pessoal e física:

Estrutura de Laboratórios de Sanidade Animal da Embrapa Gado de Corte

Laboratório Multiusuário de Biossegurança para a Pecuária (BIOPEC). Conta com uma área total de 484,35m² com moderna infraestrutura e instrumental analítico de excelência, sendo que 144,55 m² destinado a área de contenção em níveis de biossegurança NB1, NB2, NB3, além de uma inédita estrutura para biotério de manutenção e experimentação Nível 3 (NBA3), devidamente integrado ao laboratório NB3.

O BIOPEC está estruturado da seguinte forma: Área de biologia molecular (NB1) - com salas de segregados (sala de preparo de reagente, sala de manipulação e preparo de amostra, sala de Mix de PCR, sala de eletroforese, sala de fotodocumentação, sala de sequenciamento) para a execução das atividades em fluxo contínuo de processos de acordo com as boas práticas laboratoriais e outras normas da qualidade. Laboratório NB2 e NB3 - Necropsia e Biotério de Experimentação.

O laboratório NBA3 é beneficiado pelo sistema de condicionamento com 2 (dois) condicionadores de ar dedicado com controle e renovação total do ar tratado (100% de ar externo) sendo a filtragem do ar insuflado. Este ambiente conta com exaustores que mantém uma pressão negativa de 60 Pa (Pascal), no interior do laboratório em relação aos ambientes adjacentes. O sistema de filtragem conta com dois estágios, o primeiro é feito por um filtro de ar do tipo A3 ABNT instalado em caixa do tipo BAG IN BAG OUT, em área biocontida, o segundo, são duas caixas (sendo uma reserva) em paralelo do tipo BAG IN BAG OUT com filtro A3 e dampers estanques para descontaminação dos filtros antes da troca. Os sistemas de exaustão citados são formados por um conjunto de 2 (dois) ventiladores, trabalhando simultaneamente com vazão a 50% cada um, garantindo o funcionamento contínuo do sistema. Cada ventilador individualmente, em caso de necessidade são capacitados para assumir a vazão do sistema. O controle do diferencial da pressão é efetuado por variadores de frequência aplicados aos motores dos exaustores, que são comandados por sensores de pressão diferencial, instalados no ambiente entre os laboratórios NBA3 e NB2.

A saída de todos os materiais da área biocontida é realizada pelas autoclaves de fronteira com porta dupla com intertravamento ou pelo sistema alternativo de descontaminação química Pass-through.

O BIOPEC conta com um Sistema de Descontaminação de Efluentes advindos da área biocontida NBA3. A sua captação é feita por gravidade em um tanque de recepção fabricado em aço inoxidável, este efluente é transferido para um tanque de aquecimento, que ao atingir 50% de sua

capacidade, eleva-se a níveis de temperatura de esterilização e nessa condição, permanece por tempo determinado. Após esse período o efluente é transferido para os tanques de resfriamento e por fim é liberado para rede de esgoto convencional.

O laboratório conta ainda com um complexo sistema de segurança automatizado e integrado, compreendendo sistema de controle de acesso biométrico e intertravamento de portas; circuito fechado de televisão para monitoramento em tempo real; registro automático da temperatura de equipamentos críticos; sistema com redundância de geradores de energia, sistema de detecção e alarme de incêndio; e um sistema de supervisão e controle predial.

Biotério de Manutenção. É composto pelas seguintes salas de apoios: depósito de insumos, salas de lavagem de materiais e lavagem de gaiolas que se comunicam com as demais áreas através autoclaves de barreira. Possui um módulo de filtragem com carvão ativado para remoção de odores produzidos no ambiente. As salas de lavagem e desinfecção possui sistemas de ventilação e exaustão mecânicas, sendo o ar insuflado captado no meio ambiente externo, por meio de caixa de ventilação provida de filtros classe G3 ABNT, e o ar exaurido por meio de ventilador de exaustão e descarregado também no meio externo, sendo a operação dos mesmos simultânea, e eventualmente na falha de um dos dispositivos mecânicos o outro será imediatamente colocado fora de operação. Possui condicionadores de ar do tipo fan-coil de ambiente, que funcionarão em momentos quando os sistemas de ventilação e exaustão não estiverem operando. Este espaço também possui controle de acesso biométrico além de bancadas de aço inox e pias, para a lavagem dos materiais. Todos os sistemas estão em perfeito estado de funcionamento com as manutenções preventivas e preditivas de acordo com a periodicidade requerida pelo fabricante.

Quanto ao instrumental analítico, o laboratório conta com um moderno quantitativo de equipamentos, adquiridos de fornecedores de reconhecida excelência técnica para a área de pesquisa laboratorial, tais como Thermo Scientific, Applied Biosystems, Bio-Rad, Esco, Fanem, Shimadzu, Metrohm, Millipore, dentre outros. O Biopec tem a disposição de seus usuários equipamentos de última geração para uso em pesquisa avançada em biotecnologia aplicada e microbiologia tais como espectrômetro de massas; termocicladores para PCR em Tempo Real e PCR convencional; conjuntos para eletroforese horizontal e vertical de alta performance; espectrofotômetros para microplacas e microvolumes; ultracentrífuga refrigerada de alta velocidade para manipulação virológica; autoclaves com dupla porta intertravadora; cabines de segurança biológica classe II A2, com filtro absoluto ULPA e certificação na normas de qualidade EN12469:2000 (Européia) e NSF49 (Norte americana); conjuntos de racks ventilados com mini isoladores e gaiolas, com insuflamento e exaustão por filtro absoluto HEPA, para biotério de manutenção e experimentação, dentre outros.

Os custos fixos de manutenção deste complexo de laboratórios correspondem a:

1. contrato com a BIOSAFE (R\$ 27.349,44/mês);
2. energia elétrica (cerca de R\$ 10.000,00/mês);
3. contrato manutenção dos dois grupos geradores - SERTEC (R\$

1.700,00/mês);

4. contrato manutenção das autoclaves e pass-through - SUPRIMED (R\$ 4.710,00/mês).

Laboratório de Engenharia Genética Animal NB1- NB2 da Embrapa Gado de Corte (LEGA). Possui uma área total útil de 51,40 m², altura aproximada de 3 metros, totalmente climatizada. Possui porta e janelas de alumínio e vidro e piso tipo granilite e bancadas de granito com pias de cubas profundas. Possui área de nível de biossegurança (NB) 1 e 2, esta última com sistema de pressão negativa. As duas áreas possuem Certificado de Biossegurança (CQB) emitido pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). Em relação aos equipamentos que compõem o LEGA, estão: autoclave Primathec vertical CS; cabine de biossegurança Bisafe CII B3, da Veco; incubadoras refrigeradas; concentrador 5301 da Eppendorf; termocicladores; estufa de cultura bacteriana e de CO₂; balança analítica e de precisão; capela de exaustão de gases; três freezers e três refrigeradores; banho-maria e termobloco; eletroporador; entre outros. O LEGA conta com apoio técnico especializado.

Laboratório de Imunologia Aplicada - NB2 da Embrapa Gado de Corte (LIA). Possui uma área total útil de 38,98 m², altura aproximada de 3 metros, totalmente climatizada. Possui porta e janelas de alumínio e vidro e piso tipo granilite e bancadas de granito com pias de cubas profundas. Possui área de nível de biossegurança (NB) 2 com Certificado de Biossegurança (CQB). Em relação aos equipamentos que compõem o LIA, estão: Balança analítica; pHmetro; Polarizador; cabine de segurança biológica BIOSAFE 12 CLASSE II TIPO B3, Veco; capela de fluxo laminar; termocicladores; Dosador Qubit; centrífugas refrigeradas; quatro freezers e 2 refrigeradores; Magna Lyser Roche; GeneQuant Pro; incubadora shaker, entre outros. O LIA conta com apoio técnico especializado.

Estrutura do Laboratório de Sanidade Animal da Embrapa Semiárido

O laboratório de Sanidade animal – LSA, possui uma área total útil de 109,17 m² totalmente climatizada e desenhada de forma a promover a biossegurança, evitando contaminações cruzadas, além disso, possui mobiliário adequado para armazenamento de materiais, arquivos e disposição de equipamentos. Em seu layout o LSA possui um escritório de recepção e processamento de dados com 9,26 m², além disso conta com um pequeno depósito com 3,91 m² para armazenamento de materiais de consumo, uma sala com 24,69 m² para recebimento e processamento de amostras de campo (com bancada para necropsia de pequenos animais), uma sala com 13 m² para lavagem e esterilização de materiais, um laboratório de microbiologia com 17,62 m², uma sala com 6,63 m² para pesagem e manipulação de reagentes e meios de

cultura e armazenamento de reagentes e um laboratório de sorologia e imunobiológicos com 34,06 m². Todos os laboratórios possuem bancadas de granito com pias de cubas profundas.

No quesito equipamentos laboratoriais o LSA possui, três centrífugas sendo uma refrigerada, uma para micro hematócrito e outra para tubos de ensaios; uma leitora de microplacas de ELISA com computador e impressora acoplados; uma lavadora de microplacas de ELISA; três freezers -20°C; quatro refrigeradores, um fluxo laminar de grande porte com UV sendo de classe II; uma capela de exaustão de gases; estufa de grande porte para secagem e esterilização de materiais; três incubadoras microbiológicas do tipo estufa; um agitador magnético; uma balança analítica; uma mesa niveladora para lâminas de IDGA; autoclave de grande porte; um conjunto de micropipetadores multicanais (volume ajustável) para ELISA; e um conjunto de micropipetadores monocanal (volume ajustável).

Estrutura de Laboratórios da Embrapa Pecuária Sudeste

Os Laboratórios ligados à Sanidade Animal, localizados na Embrapa Pecuária Sudeste são, LBAN, LCCA, LMI, LSA, LSO e LTRQ e destinam-se ao desenvolvimento das atividades de PD&I com foco em animais de produção pecuária. A infraestrutura destes laboratórios consta de uma área de 600m² de área construída, moderna e funcional. Visando o avanço nas pesquisas em tecnologias para garantir a saúde dos rebanhos e a segurança alimentar das populações, contribuindo com a defesa sanitária animal em todas as suas ações.

Laboratório de Biotecnologia Animal (LBAN). Possui equipamentos de ponta para desenvolver as atividades de PD&I, tais como: Termocicladores, Termociclador para RT-PCR, Sequenciador ABI3100 Avant – “Sanger”, Sequenciador MiSeq – “Nova Geração”, centrífuga refrigerada, centrífuga para microtubos, centrífuga para placa de PCR, Termomixer, capela de fluxo laminar, deionizador Elga, balanças, pHmetro, purificador de água, estufa e mufla, autoclaves e lavadora de vidrarias. Nesse laboratório, são realizados extração, sequenciamento e quantificação de DNA (extraídos de amostras de sangue, sêmen, microbiota de fezes, líquido ruminal de bovinos e ovinos, Genotipagem de marcadores moleculares por diversas técnicas como ARMS-PCR, RFLP, sequenciamento de DNA utilizando técnicas modernas, tais como “salting out”, RT-qPCR, método “Sanger”, qPCR, entre outros.

Laboratório de Sanidade Animal (LSA). Possui Termocicladores, termociclador para RT-PCR, centrífuga refrigerada, citômetro de fluxo (4 cores), microscópio imunofluorescência, centrífuga de microhematócrito, termomixer, leitora de microplacas de ELISA, incubadora tipo BOD, dois freezers -20°C, duas capelas de fluxo laminar. São realizadas extração de ácidos nucleicos, quantificação absoluta de DNA, Quantificação relativa da expressão de genes de imune resposta para bovinos e ovinos, Imunofenotipagem da imunidade inata e da imunidade adaptativa, quantificação de anticorpos (IgG), utilizando citometria de fluxo, técnicas de esfregaço sanguíneo e diversos tipos de ELISA.

Laboratório de Tratamento de Resíduos Químicos (LTRQ). Atende a todas as atividades da Unidade que geram resíduos químicos e possui: duas capelas de exaustão, pHgâmetro, mufla, estufa de secagem de resíduos, espectrofotômetro UV-vis, agitador magnético, lavadores de gases ácidos e orgânicos, caixa externa de neutralização de resíduos, com filtro de carvão ativado, balança semianalítica. Neste laboratório realiza-se o tratamento do brometo de etídio, neutralização de resíduos ácidos e básicos, precipitação de metais pesados (cromo VI e bário) em resíduos de materiais gerados pelas análises laboratoriais. Para isso, são utilizadas as técnicas de neutralização, filtração por carvão ativado, precipitação com hidróxidos, quebra e desativação da cadeia do brometo de etídio

Estrutura de Laboratórios da Embrapa Gado de Leite

Laboratório de Genética Molecular (GM). Possui PCR em Tempo Real, espectrofotômetro Nanodrop, Bioanalyzer e fotodocumentador (Eagle Eye II, Stratagene), e toda a infraestrutura que viabiliza a extração de RNA, reação de PCR convencional, a eletroforese em gel de agarose (microcentrífuga, termocicladores, fonte e cubas de eletroforese, capela de fluxo laminar para PCR etc.) e sequenciador automático de DNA (MegaBace1000). Para análise de bioinformática são utilizados os computadores e programas disponíveis no Laboratório de Bioinformática da Embrapa Gado de Leite.

Laboratório de Nanotecnologia. Conta com a infraestrutura necessária para a realização dos experimentos de perfusão e manutenção da glândula mamária (dispositivos de gases, suporte, microscópio de fluorescência, bomba peristáltica, estufas, ultrassom de ponteira etc.).

Laboratório de Microbiologia do Leite. Possui toda a infraestrutura necessária para a realização de técnicas microbiológicas clássicas de isolamento e identificação e caracterização molecular de micro-organismo (autoclaves, estufas bacteriológicas e de secagem de vidraria, forno de esterilização, balanças, capelas de fluxo laminar, microscópios ópticos, vórtex, ultracentrífuga, refrigeradores, congeladores a -20°C e -80°C, entre outros). Também está disponível um termociclador em tempo real ABI7500 Applied e um citômetro de fluxo FACSVerse com 3 lasers e 4 detectores.

Estrutura de Laboratórios de Sanidade e Genética Animal (LGSa) da Embrapa Suínos e Aves

O LSGA da Embrapa Suínos e Aves foi construído com o objetivo de realizar pesquisas nas áreas de sanidade e genética de suínos e aves. Os projetos de pesquisas envolvem inúmeros ensaios laboratoriais que são padronizados, validados e utilizados para atingir as metas propostas. As metodologias são desenvolvidas ou adaptadas no laboratório, utilizadas nos projetos de pesquisa, e quando pertinentes incorporadas à rotina de trabalho e/ou disponibilizadas para clientes ou parceiros de pesquisa. Sendo assim, o LSGA se caracteriza como um laboratório de pesquisa e desenvolvimento.

O LSGA foi criado em 1982, com 1.108m² de área construída. Em 2007, foi reformado e ampliado para 1.188m² com a construção de um laboratório de biossegurança nível 3 (NB3) (em fase de certificação) que possibilitará a realização de pesquisas com agentes de impacto na produção de suínos e aves sem colocar em risco o setor produtivo. Em 2011, passou por nova ampliação, e atualmente totaliza 1.775m² de área.

A atual estrutura do laboratório possibilita o atendimento das Normas de Biossegurança e das Normas de Boas Práticas de Laboratório, sendo caracterizado como um laboratório de biossegurança nível 2 (NB2). O LSGA está subordinado à Chefia Adjunta de Pesquisa e Desenvolvimento e contempla, além dos laboratórios, as áreas de: Granja de Produção de Aves e Ovos SPF (Livre de Patógenos Específicos); Granja de Produção de Suínos SPF; Sala de Necropsia; Instalações de Isolamento para experimentação animal, Biotério e escritórios de pesquisa

As atividades desenvolvidas nos laboratórios abrangem a realização de ensaios nas áreas de Virologia, Bacteriologia, Imunologia, Patologia, Reprodução, Genética molecular. Paralelo às pesquisas, o laboratório dá suporte às granjas da Embrapa Suínos e Aves, tanto na prestação de serviços de diagnóstico, como na monitoria do rebanho. Anualmente, são realizadas, em média, 55 mil análises laboratoriais. Com o objetivo de potencializar as atividades desenvolvidas no LSGA, a comissão de Análise e Melhoria de Processos (AMP) vem desenvolvendo suas atividades desde 2002, onde se propõe a identificar, priorizar e buscar soluções para os problemas do processo.

Projetos em andamento e contrapartida de orçamento:

Coordenador: Flávio Ribeiro de Araújo. Projeto: Sequenciamento genômico para análise de persistência local e disseminação de focos de tuberculose bovina. Fomento: CNPq. Orçamento: R\$ 55.707,00

Coordenador: Flávio Ribeiro de Araújo. Projeto: Abordagem multidiagnóstica para a detecção da tuberculose bovina. Fomento: Fundect. Orçamento: R\$ 205.123,54

Coordenador: Flávio Ribeiro de Araújo. Projeto: Sequenciamento genômico para análise de persistência local e disseminação de focos de tuberculose bovina. Fomento: Fundect. Orçamento: R\$105.000,00

Coordenador: Flávio Ribeiro de Araújo. Projeto: Modernização dos procedimentos de inspeção federal ante e post mortem aplicados em abatedouros frigoríficos de bovinos, com base em risco. Fomento: Embrapa. Orçamento: R\$656.034,25

Coordenador: Alessandro Pelegrini Minho. Projeto: Desenvolvimento de métodos alternativos para controle de ectoparasitos de interesse veterinário. Orçamento: R\$ 595.518,88. Responsável por atividade: Lea Chapaval Andri. Atividade: Método de controle biológico de populações de mosca-dos-estábulo (*Stomoxys calcitrans*) baseado na utilização da bactéria *Wolbachia*.

Alunos de pós-graduação bolsistas

Coordenador: Carlos Ricardo Soccol. Projeto: Plataforma biotecnológica de identificação e produção de antígenos para diagnósticos de doenças emergentes aplicada na prevenção e combate a surtos, endemias, epidemias e pandemias. Fomento: CAPES. Orçamento: R\$ 319.293,00. Responsável por atividade: Lea

Chapaval Andri. Membro da Equipe: Josir Laine Aparecida Veschi. Atividade: Padronização dos testes tipo ELISA e Lateral Flow para COVID-19 (SARSCoV2), tuberculose, hanseníase e leishmaniose.

Coordenador: Lea Chapaval Andri. Projeto: Point-of-Care (POC): uso da técnica para detecção de mastite bovina. Fomento: Embrapa – SEG. Orçamento: R\$ 507.130,00. Responsável por Solução de Inovação: Josir Laine Aparecida Veschi: Produção de Anticorpos monoclonais para utilização em Teste Rápido para Detecção de Mastite Bovina; e Responsável por Atividades: Purificação dos anticorpos monoclonais e Dosagem ou quantificação de anticorpos.

Coordenador: Ana Valéria Vieira de Souza. Projeto: Desenvolvimento de produtos com óleo essencial de *Lippia grata* Schauer para uso na cadeia produtiva da caprinovinocultura do Semiárido brasileiro. Fomento: Embrapa- SEG. Orçamento: R\$178.290,00 Responsável por

Solução de Inovação: Josir Laine Aparecida Veschi. Tratamento de linfadenite caseosa com aplicação de formulações a base do óleo essencial de *L. grata* e Atividade: Efeito do óleo essencial de *L. grata* frente à bactéria causadora de Linfadenite caseosa

Coordenador: Rebert Coelho Correa. Projeto: Lagos do São Francisco. Fomento: CHESF. Orçamento: R\$ 1.500.000,00. Responsável por Atividades: Josir Laine Aparecida Veschi. Atividade: Programas sanitários para ovinos e caprinos criados na Caatinga e Prevenção da estafilococose em tilápias.

Coordenadora: Emanuelle Baldo Gaspar: Avanços no Diagnóstico do Mormo Equino no Brasil. Orçamento: R\$ 97.840,73.

Coordenadora: Emanuelle Baldo Gaspar: Desenvolvimento de testes para diagnóstico sorológico de tristeza parasitária bovina: Orçamento: R\$ 388.332,00

Coordenador: Luizinho Caron. Projeto: Revisão e modernização do Sistema de

Inspeção Federal de abatedouros de aves. Fomento: Embrapa

Orçamento: R\$ 95.500,00

Coordenador: Ana Paula Almeida Bastos. Projeto: Avaliação dos Componentes Imunológicos do Colostro Fresco e Congelado Suíno. Fomento: Embrapa.

Orçamento: R\$ 74.069,20

Coordenador: Ana Paula Almeida Bastos. Projeto: Desenvolvimento de um novo sistema de entrega virossomal de antígenos e sua eficácia na resposta imune local e sistêmica. Fomento: Embrapa. Orçamento: R\$ 46.391,00

Coordenador: Ana Paula Almeida Bastos. Projeto: Desenvolvimento e avaliação de nanomedicamento para tratamento de coccidiose em frangos de corte. Fomento: Embrapa. Orçamento: R\$ 249.999,65

Coordenador: Clarissa Silveira Luiz Vaz. Projeto: Aprimoramento da biodisponibilidade de bacteriófagos para controle de salmoneloses na avicultura. Fomento: Embrapa. Orçamento: R\$ 243.302,28.

Coordenador: Rejane Schaefer. Projeto: Diversidade genética e antigênica dos vírus influenza A e eficácia de métodos de diagnóstico e vacina nanotecnológica para o controle da influenza em suínos. Fomento: Embrapa. Orçamento: R\$ 365.539,65

Coordenador: Virgínia Santiago Silva. Projeto: Metodologias e processos para melhoria na operacionalização e ampliação de escopo da vigilância e monitoramento sanitário de javalis asselvajados – Projeto Javali fase 2. Fomento: Embrapa. Orçamento: R\$ 600.121,75

Coordenador: Raquel Rebelatto. Projeto: Desenvolvimento de vacina para controle da pasteurelose pulmonar em suínos. Fomento: Embrapa. Orçamento: Recursos extra SEG

Coordenador: Mariana Groke Marques. Projeto: Novas tecnologias e práticas sanitárias visando a fertilidade e a qualidade microbiológica do sêmen suíno com redução do uso de antimicrobianos. Fomento: Embrapa. Orçamento: R\$ 408.020,00

Coordenador: Sabrina Castilho Duarte. Projeto: Detecção e quantificação rápida de *Salmonella* sp. no processo de abate de frango por metabolômica combinada à inteligência artificial. Fomento: Embrapa. Orçamento: R\$ 450.000,81

Coordenador: Jalusa Deon Kich; Projeto: Estudos sobre o uso de antimicrobianos na suinocultura como subsídio para ao Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos (PAN-BR Agro); Fomento: Embrapa, Orçamento: R\$ 462.875,00

Bolsistas:

Embrapa Pecuária Sudeste:

Bruna Moraes Estela - Doutorado CAPES

Fernanda Zettel - Pós doutorado CAPES

Salário de pesquisadores:

Base de cálculo de 3 horas por semana, de cada pesquisador (Flávio Ribeiro de Araújo, Lenita Ramires dos Santos, Vanessa Felipe de Souza, Newton Valério

Verbisck, Josir Laine Aparecida Veschi, Lea Chapaval Andri, Emanuelle Baldo Gaspar e Janice Reis Ciacci Zanella) por 24 meses de projeto: R\$ 682.940,16

6. SUBDESCENTRALIZAÇÃO

A Unidade Descentralizadora autoriza a subdescentralização para outro órgão ou entidade da administração pública federal?

Sim

Não

7. FORMAS POSSÍVEIS DE EXECUÇÃO DOS CRÉDITOS

ORÇAMENTÁRIOS:

A forma de execução dos créditos orçamentários descentralizados poderá ser:

Direta, por meio da utilização capacidade organizacional da Unidade Descentralizada.

Contratação de particulares, observadas as normas para contratos da administração pública.

Descentralizada, por meio da celebração de convênios, acordos,

ajustes ou outros instrumentos

congêneres, com entes federativos, entidades privadas sem fins lucrativos, organismos internacionais

ou fundações de apoio regidas pela Lei nº 8.958, de 20 de dezembro de 1994 e pela Portaria 424/2016.

Observação:

1. Podem ser marcadas uma, duas ou três possibilidades.

2. Não é possível selecionar forma de execução que não esteja prevista no Cadastro de Ações da ação orçamentária específica, disponível no SIOF.

8. CUSTOS INDIRETOS (ART. 8, §2º)

A Unidade Descentralizadora autoriza a realização de despesas com custos operacionais necessários à consecução do objeto do TED?

Sim

Não

O pagamento será destinado aos seguintes custos indiretos, até o limite de 20% do valor global pactuado:

1. Despesas Operacionais e Administrativas (DOA) com Fundação de Apoio, de 10% do total.

Observação:

1. O pagamento de despesas relativas a custos indiretos está limitado a vinte por cento do valor global pactuado, podendo ser excepcionalmente ampliado pela unidade descentralizadora, nos casos em que custos indiretos superiores sejam imprescindíveis para a execução do objeto, mediante justificativa da unidade descentralizada e aprovação da unidade descentralizadora.
2. Na hipótese de execução por meio da celebração de convênios, acordos, ajustes ou outros instrumentos congêneres, com entes federativos, entidades privadas sem fins lucrativos, organismos internacionais ou fundações de apoio regidas pela [Lei nº 8.958, de 20 de dezembro de 1994](#), a proporcionalidade e as vedações referentes aos tipos e percentuais de custos indiretos observarão a legislação aplicável a cada tipo de ajuste.

9. CRONOGRAMA FÍSICO-FINANCEIRO

Metas	Descrição	Un. medida	Quant.	Valor un.	Valor Total	Início	Fim
1.1	Determinação da estrutura populacional, eventos de transmissão e análise de persistência de focos de <i>Burkholderia mallei</i> em equídeos das diferentes regiões do Brasil por sequenciamento genômico Produto: Banco de genomas sequenciados, anotados e analisados	PER	100	R\$2.643,73	R\$ 264.373,90	12/2020	11/2022
1.2	Padronização de MALDI-TOF para confirmação da identidade de <i>B. mallei</i> isolado em cultura de casos clínicos detectados no Brasil e diferenciação de <i>B. pseudomallei</i> Produto: MALDI-TOF padronizado para o	PER	100	R\$473,21	R\$47.320,88	12/2020	11/2022

	diagnóstico de mormo						
2.1	Desenvolvimento de banco referência de amostras clínicas de <i>Burkholderia mallei</i> , por meio de infecção experimental de equídeos Produto: banco referência de amostras clínicas de <i>Burkholderia mallei</i>	PER	100	R\$3.132,13	R\$ 313.212,48	12/2020	11/2022
2.2	Determinação do desempenho dos testes ELISA e Western Blotting (WB) para diagnóstico de mormo, disponíveis no Brasil, com banco referência de soros. Produto: Desempenhodos testes sorológicos determinado	PER	100	R\$136,14	R\$ 136.140,00	12/2020	11/2022
2.3	Desenvolvimento de uma metodologia de diagnóstico sorológico para diferenciação entre <i>Burkholderia mallei</i> e <i>B. pseudomallei</i> . Produto: Método de diagnóstico sorológico para diferenciação entre <i>B. mallei</i> e <i>B. pseudomallei</i> .	PER	100	R\$425,86	R\$ 42.586,19	12/2020	11/2022
3.1	Estabelecimento de bancos de soro de referência para anticorpos contra o vírus da febre aftosa, Mycobacterium bovis e Senecavírus A Produto: banco de soros estabelecido	PER	100	R\$ 38,48	R\$ 38.481,35	12/2020	11/2022
3.2	Desenvolvimento de protótipos de testes de fluxo lateral para detecção de anticorpos contra o vírus da febre aftosa, Mycobacterium bovis e Senecavirus A Produto: Protótipos de testes de fluxo lateral desenvolvidos	PER	100	R\$ 4.066,61	R\$406.661,19	12/2020	11/2022
3.3	Determinação do desempenho de testes de fluxo lateral para detecção de anticorpos contra o vírus da febre aftosa, mediante ensaios pré-clínicos. Produto: Teste de fluxo lateral para febre aftosa padronizado	PER	100	R\$834,69	R\$83.468,54	12/2020	11/2022
3.4	Determinação do desempenho de testes de fluxo lateral para	PER	100	R\$834,69	R\$83.468,54	12/2020	11/2022

	detecção de anticorpos contra Mycobacterium bovis, mediante ensaios pré-clínicos. Produto: Teste de fluxo lateral para tuberculose padronizado						
3.5	Determinação do desempenho de testes de fluxo lateral para detecção de anticorpos contra Senecavírus A, mediante ensaios pré-clínicos. Produto: Teste de fluxo lateral para Senecavírus A padronizado	PER	100	R\$834,69	R\$83.468,54	12/2020	11/2022
	Despesas Operacionais e Administrativas (DOA) com Fundação de Apoio, de 10% do total.	PER	100	R\$1.499,18	R\$ 149.918,16	12/2020	11/2022

10. CRONOGRAMA DE DESEMBOLSO

MÊS/ANO	VALOR
12/2020	R\$ 1.649.099,77

11. PLANO DE APLICAÇÃO CONSOLIDADO – PAD

Observação: O preenchimento do PAD deverá ser até o nível de elemento de despesa.

CÓDIGO DA NATUREZA DA	CUSTO INDIRETO	VALOR PREVISTO
-----------------------	----------------	----------------

DESPESA		
33390.30.00 - MATERIAL DE CONSUMO	Não	R\$ 1.101.743,59
33390.14.14 - DIÁRIAS NO PAÍS	Não	R\$ 28.717,02
33390.33.01 - PASSAGENS PARA O PAÍS	Não	R\$ 13.020,00
33390.36.00 - OUTROS SERVIÇOS DE TERCEIROS - PESSOA FÍSICA	Não	R\$ 300.000,00
33390.39.00 - OUTROS SERVIÇOS TERCEIROS- PESSOA JURÍDICA	Não	R\$ 55.701,00
33390.39.00 - OUTROS SERVIÇOS TERCEIROS- PESSOA JURÍDICA - DOA	Sim	R\$ 149.918,16
Total		R\$ 1.649.099,77

12. PROPOSIÇÃO

Local e data

José Guilherme Tollstadius Leal - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Luiz Orcirio Fialho de Oliveira – Chefe-Geral em exercício da Embrapa Gado de Corte

Paulo Henrique Nogueira Biscola - Chefe-Adjunto de Administração da Embrapa Gado de Corte

Observação: Autoridades competentes para assinar o TED.

13. APROVAÇÃO

Local e data

José Guilherme Tollstadius Leal – Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Observação: Autoridade competente para assinar o TED.

Observações:

1. Em atenção ao disposto no § 2º do art. 15 do Decreto nº 10.426, de 2020, as alterações no Plano de Trabalho que não impliquem alterações do valor global e da vigência do TED poderão ser realizadas por meio de apostila ao termo original, sem necessidade de celebração de termo aditivo, vedada a alteração do objeto aprovado, desde que sejam previamente aprovadas pelas Unidades

Descentralizadora e Descentralizada.

2. A elaboração do Plano de Trabalho poderá ser realizada pela Unidade Descentralizada ou pela Unidade Descentralizadora.

III - MODELO DE DECLARAÇÃO DE COMPATIBILIDADE DE CUSTOS DOS ITENS QUE COMPÕEM O PLANO DE TRABALHO (inciso IV do art. 11 do Decreto nº 10.426, de 16 de julho de 2020)

DECLARAÇÃO DE COMPATIBILIDADE DE CUSTOS

Nome da autoridade competente: Luiz Orcirio Fialho de Oliveira

Número do CPF: 424.613.836-34

EU, Luiz Orcirio Fialho de Oliveira, CPF nº 424.613.836-34, ocupante do cargo de Chefe Geral em exercício, DECLARO, para fins de comprovação junto a Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), nos termos do inciso IV do art. 11 do Decreto nº

10.426, de 16 de julho de 2020, sob as penalidades da lei, que os valores dos itens apresentados no Plano de Trabalho para o Termo de Execução Descentralizada - TED nº 02/2020, apresentado pelo(a) Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte/Embrapa Gado de Corte, estão aderentes à realidade de execução do objeto proposto.

DECLARO, outrossim, que quaisquer desembolsos no âmbito da Unidade Descentralizada para execução do TED, mediante contratação de particulares ou celebração de convênios, acordos, ajustes ou outros instrumentos congêneres deverão ser obrigatoriamente precedidos dos procedimentos necessários para apuração da compatibilidade dos preços com os praticados no mercado.

Data

Assinatura da Autoridade da Unidade Descentralizada, com competência para assinar

Luiz Orcirio Fialho de Oliveira

CPF: 424.613.836-34

Assinatura da Autoridade da Unidade Descentralizada, com competência para assinar.

Paulo Henrique Nogueira Biscola

CPF: 722.425.071-68

IV - MODELO DE DECLARAÇÃO DE CAPACIDADE TÉCNICA DA UNIDADE DESCENTRALIZADA (inciso V do art. 11 do Decreto nº 10.426, de 16 de julho de 2020)

DECLARAÇÃO DE CAPACIDADE TÉCNICA

EU, Luiz Orcirio Fialho de Oliveira, CPF nº 424.613.836-34, ocupante do cargo de Chefe-Geral em exercício DECLARO, para fins de comprovação junto a Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), nos termos do inciso V do art. 11 do Decreto nº 10.426, de 16 de julho de 2020, sob as penalidades da lei, que o(a) Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte/Embrapa Gado de Corte, possui capacidade técnica e competência institucional para executar o objeto proposto no Plano de Trabalho para o Termo de Execução Descentralizada - TED nº 02/2020.

A forma de execução dos créditos orçamentários, conforme Plano de Trabalho apresentado, foi considerada para a apresentação da presente declaração, nos termos do § 5º do artigo 16 do Decreto nº 10.426, de 2020.

Data

Assinatura da Autoridade da Unidade Descentralizada, com competência para assinar

Luiz Orcirio Fialho de Oliveira

CPF: 424.613.836-34

Assinatura da Autoridade da Unidade Descentralizada, com competência para assinar.

Paulo Henrique Nogueira Biscola

CPF: 722.425.071-68



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Orcirio Fialho de Oliveira, Usuário Externo**, em 24/12/2020, às 09:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Henrique Nogueira Biscola, Usuário Externo**, em 24/12/2020, às 09:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **JOSE GUILHERME TOLLSTADIUS LEAL, Secretário(a) de Defesa Agropecuária**, em 24/12/2020, às 10:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sistemas.agricultura.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **13296951** e o código CRC **3EED4DF6**.

Referência: Processo nº 21000.072452/2020-15

SEI nº 13296951