

Manual Veterinário de Colheita e Envio de Amostras



2010



**Organização
Pan-Americana
da Saúde**

Comitê Regional para as Américas da
Organização Mundial da Saúde

Saúde Pública Veterinária
Centro Pan-Americano de Febre Amarela

Manual Veterinário de Colheita e Envio de Amostras

2010



**Organização
Pan-Americana
da Saúde**



Escritório Regional para as Américas da
Organização Mundial da Saúde

Saúde Pública Veterinária
Centro Pan-Americano de Febre Aftosa

É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte. A responsabilidade pelos direitos autorais de textos e imagens é do autor.

Tiragem: 5.000 exemplares
1ª edição. Ano 2010

Impresso no Brasil / Printed in Brazil

Distribuição e informações

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
Departamento de Saúde Animal
Coordenação Geral de Combate a Doenças
Esplanada dos Ministérios, Bloco D, Anexo A,
3º andar, Sala 301
CEP 70043-900 – Brasília, DF
www.agricultura.gov.br
0800 - 7041995

Este Manual foi realizado no âmbito do Termo de Cooperação Técnica (TCT) com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e o Centro Pan-Americano de Febre Aftosa (PANAFTOSA) da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS)/ Organização Mundial da Saúde (OMS).

Manual veterinário de colheita e envio de amostras: manual técnico. Cooperação Técnica MAPA/OPAS-PANAFTOSA para o Fortalecimento dos Programas de Saúde Animal do Brasil. Rio de Janeiro: PANAFTOSA - OPAS/OMS, 2010.

218p.: il. Color.; 15 cm. (Série de Manuais Técnicos, 13)

ISSN 0101-6970

1. Colheita de amostras - manuais. 2. Doenças dos animais - diagnóstico. I. Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS. II. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. III. Título. IV. Séries.

Coordenação

Guilherme Henrique Figueiredo Marques - DSA/SDA/MAPA
Júlio César Augusto Pompei – OPAS/PANAFTOSA
Mônica Martini - OPAS/PANAFTOSA

Revisão Técnica

Júlio César Augusto Pompei – OPAS/PANAFTOSA
Mônica Martini - OPAS/PANAFTOSA
Gilfredo Darsie - OPAS/PANAFTOSA
Guilherme Henrique Figueiredo Marques – DSA/SDA/MAPA
Ana Cristina Gonçalves Pinto da Rocha – CGAL/SDA/MAPA

Elaboração: Grupo Técnico

Edviges Maristela Pituco – IB/SP
Josefe Garcia Bersano – IB/SP
Claudia Del Fava – IB/SP
Claudia Pestana Ribeiro – IB/SP
Simone Miyashiro – IB/SP
Ricardo Spacagna Jordão – IB/SP
Adriana Hellmeister de Campos Nogueira – IB/SP
Antonio Guilherme Machado de Castro – CAPTAA/SP
Renato Luís Luciano – CAPTAA/SP
Ana Maria Iba Kanashiro – CAPTAA/SP
Ana Lúcia S. P. Cardoso – CAPTAA/SP
Eliana Neire Castiglioni Tessari – CAPTAA/SP
Érica Weinstein Teixeira – APTA/SP
Dejair Message – UFV/MG

Revisão Bibliográfica

Astrid Rocha Pimentel

Colaboração

IB/SP: Alessandra Figueiredo de Castro Nassar, Elenice Sequetin Cunha, Eliana De Stefano, Eliana Roxo, Eliana Scarcelli Pinheiro, Liria Hiromi Okuda, Margareth Élide Genovez e Wilter Ricardo Russiano Vicente.
MAPA: José Carlos de Souza
CDA/SP: Armando Salvador da Silva (*In memoriam*)
Departamentos de Clínica Veterinária e de Reprodução Animal da FMVZ/ USP

Apresentação

A Cooperação Técnica entre o Centro Pan-Americano de Febre Aftosa e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento tem possibilitado ações efetivas para o fortalecimento dos Programas de Saúde Animal do Brasil, investindo principalmente no aprimoramento das ações técnicas e na valorização dos profissionais envolvidos na manutenção do patrimônio representado pela Sanidade Animal.

Este “Manual Veterinário de Coleta e Envio de Amostras” foi elaborado para preencher uma lacuna na bibliografia especializada e sua proposta é servir de guia para consulta rápida e objetiva por veterinários de campo do serviço oficial ou

autônomos. Visa assim, aprimorar a qualidade da amostra colhida e assegurar sua correta conservação e envio, facilitando à rede laboratorial a realização de diagnósticos rápidos e conclusivos, no âmbito dos Programas Nacionais de Sanidade Animal.

É nosso desejo que este Manual, além de ser utilizado no campo por profissionais da medicina veterinária, seja também um valioso instrumento de capacitação, uso e referência para os Serviços de Sanidade Animal.

Jamil Gomes de Souza

Departamento de Saúde
Animal - Diretor

Ottorino Cosivi

Centro Pan-Americano de
Febre Aftosa – Diretor

Prefácio

O Manual Veterinário de Colheita e Envio de Amostras foi elaborado de forma simples, prática e com uma visão atualizada dos aspectos mais importantes da colheita de amostra para o diagnóstico das principais doenças dos animais. Os autores deram especial ênfase àqueles pontos que, com base em sua experiência, consideram de maior interesse, particularmente para os Programas de Saúde Animal do Brasil.

Em seus capítulos, divididos de acordo com os aspectos de biossegurança e com a colheita de amostras para o diagnóstico de doenças de ruminantes, equídeos, suídeos, aves e abelhas *Apis mellifera*, o manual pretende fornecer um apoio ao médico veterinário de campo quanto à correta colheita de material da espécie afetada e ao sistema comprometido, para que as amostras colhidas de eleição não levem em consideração apenas a doença suspeita quando da realização do exame clínico, o que impossibilitaria os diagnósticos diferenciais.

O Manual não pretende esgotar todos os assuntos nele abordados, mas abre a possibilidade de uma discussão focada e atualizada e dará ensejo a futuras contribuições, revisões e complementações. Espera-se que os usuários deste Manual o apliquem em suas atividades no dia-a-dia, esclarecendo dúvidas e promovendo mudanças que resultem em melhorias na atenção veterinária.

Agradecimentos

Expressamos nossos sinceros agradecimentos ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) pelo apoio na elaboração deste Manual e à equipe de autores pelo excelente trabalho realizado.

Sumário

Capítulo 1

Biossegurança	15
1. Equipamentos de proteção individual (EPI)	16
2. Equipamentos para contenção dos animais	18
3. Identificação do animal e da amostra	20
4. Descarte de material.....	22
5. Acondicionamento para remessa de amostras para diagnóstico.....	24
6. Requisição de exames	28

Capítulo 2

Ruminantes, Equídeos e Suídeos	35
Sangue	36
Sangue.....	38
Colheita de sangue com sistema a vácuo.....	40
Colheita de sangue com seringa e agulha.....	42
Boas práticas de colheita para prevenção da hemólise.....	44
Boas práticas pós-colheita para prevenção da hemólise.....	45

Tabela de medidas de agulhas

46

Tubos para colheita de sangue

47

Pele e mucosas.....

48

Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças de pele e mucosas

50

Amostras para diagnóstico de doenças de pele e mucosas.....

52

Líquido e tecido epitelial vesicular

52

Líquido esofágico-faríngeo (LEF)

54

Exsudato (secreções).....

56

Biópsia de pele e mucosa

58

Raspado de pele.....

60

Sangue.....

62

Sistema respiratório

64

Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças do sistema respiratório

66

Amostras para diagnóstico de doenças do sistema respiratório

68

Pulmão e linfonodos

68

Secreções.....

70

Sangue.....

72

Sistema gastrointestinal..... 74Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças do sistema gastrointestinal..... **76**Amostras para diagnóstico de doenças do sistema gastrointestinal..... **78** Conteúdo ruminal..... **78** Fezes..... **80** Alimentos para nutrição animal..... **82** Sangue..... **84****Sistema reprodutor e urinário..... 86**Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças do sistema reprodutor e urinário..... **88**Amostras para diagnóstico de doenças do sistema reprodutor e urinário..... **90** Feto de até 2 Kg..... **90** Feto e natimorto com mais de 2 Kg..... **92** Placenta..... **94** Sêmen..... **96** Muco prepucial – técnica do suabe..... **98** Muco prepucial – técnica do lavado prepucial..... **100** Muco cervicovaginal..... **102** Urina..... **104** Sangue..... **106****Sistema circulatório e linfático..... 108**Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças do sistema circulatório e linfático..... **110**Amostras para diagnóstico de doenças do sistema circulatório e linfático..... **112** Órgãos - sistema nervoso central, fígado, baço, pulmão, rim, coração, linfonodos e intestino delgado e grosso..... **112** Sangue capilar e venoso..... **116** Sangue..... **118****Sistema osteoarticular..... 120**Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças do sistema osteoarticular..... **122**Amostras para diagnóstico de doenças do sistema osteoarticular..... **124** Líquido sinovial..... **124** Sangue..... **126****Sistema nervoso central (SNC)..... 128**Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças do sistema nervoso central (SNC)..... **130**Amostras para diagnóstico de doenças do sistema nervoso central (SNC)..... **132** SNC inteiro..... **132** Porções do sistema nervoso central (SNC)..... **134** Outros Órgãos - fígado, baço, pulmão, rim, coração, linfonodos, intestino delgado e grosso..... **138** Sangue..... **142**

Aves	145
Principais doenças que acometem as aves	146
Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças das aves	148
Amostras para diagnóstico de doenças das Aves	150
Sangue (para obtenção do soro)	150
Órgãos	154
Suabe de traquéia	158
Suabe de cloaca	160
Suabe de arrasto - a) gaze ou esponja e b) propé ...	162
Fundo de caixa	164
Papel ou cepilho – que forra a caixa de transportes de aves de 1 dia	166
Fezes frescas	168
Mecônio	170
Ovos bicados	172

Abelhas <i>Apis mellifera</i>	175
Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças de abelhas <i>Apis mellifera</i>	176
Garantindo a segurança.....	178
Reconhecendo as partes de uma colmeia.....	179
Identificando os indivíduos da colônia, células de operárias, células de zangão e realeira.....	180
Abrindo e inspecionando uma colmeia	182
Fases do desenvolvimento das abelhas	186
Diferentes anomalias na fase de cria	188
Principais doenças, intoxicações e parasitoses que afetam Crias de Abelhas – <i>Apis mellifera</i>	190
Amostras para diagnóstico das principais doenças que afetam Crias de Abelhas – <i>Apis mellifera</i>	194
Amostra 1.....	194
Amostra 2	196
Amostra 3	198
Amostra 4	200
Principais doenças, intoxicações e parasitoses que afetam Abelhas Adultas – <i>Apis mellifera</i>	202
Amostras para diagnóstico das principais doenças que afetam Abelhas Adultas – <i>Apis mellifera</i>	204
Amostra 1.....	204
Amostra 2	206
Amostra 3	208
Amostra 4	210
Amostra 5	212
Bibliografia	214

BIOSSEGURANÇA

Autores

Edviges Maristela Pituco
Ricardo Spacagna Jordão
Adriana Hellmeister de Campos Nogueira

Centro de P & D de Sanidade Animal
Instituto Biológico (APTA/SAA-SP)

Biossegurança é um conjunto de procedimentos destinados a prevenir, controlar, reduzir ou eliminar riscos inerentes às atividades suscetíveis de comprometer a saúde humana, animal e o ambiente

1 - Equipamentos de proteção individual (EPI)

Utilizar vestimentas de proteção apropriadas de acordo com o risco, tais como macacão, avental ou calça e jaqueta impermeáveis.



2 - Equipamentos para contenção dos animais

Verifique com antecedência se as instalações e equipamentos estão disponíveis, limpos e em boas condições de uso. Utilize equipamentos e materiais de boa qualidade.



Abre boca



Cachimbo

Imobilizador nasal tipo "formiga"



Para prevenir acidentes e fazer uma boa colheita de amostras para diagnóstico, é muito importante que o animal esteja bem imobilizado. Isto deve ser feito preferencialmente no tronco de contenção.



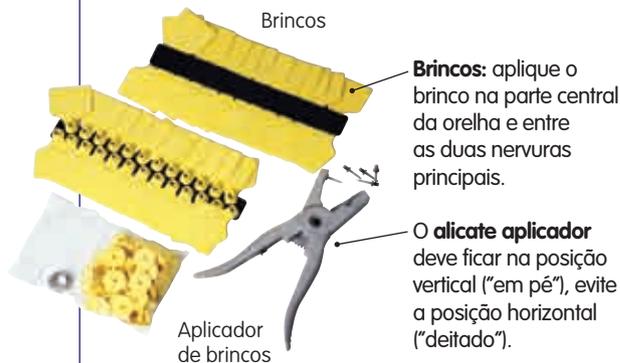
- ✓ Uma boa contenção pode ser obtida pelo uso de argola nasal



Muitas vezes é necessário o uso de peias, principalmente quando há risco de acidentes (com coices) ou quando os animais ficam inquietos.

3 - Identificação do animal e da amostra

Os métodos de identificação animal mais comuns são: tatuagem, brinco (visual ou eletrônico) e marcação a fogo.



A identificação da amostra começa com a identificação do animal. Essa etapa é crucial para que no final do processo, seja garantida a rastreabilidade. No momento da colheita da amostra de cada animal, o número do animal deverá ser conferido e anotado no rótulo do frasco e no formulário de colheita. Na impossibilidade de se obter a identificação do animal, identificar o lote ou núcleo, a colmeia, entre outros.

NOTA
Registrar a identificação do animal no recipiente de colheita, preferencialmente em rótulo de esparadrapo com caneta esferográfica. Para substituir essa forma de identificação, é necessário que a alternativa a ser empregada seja previamente testada.



4 - Descarte de material

Material perfuro-cortante

Agulhas, lâminas de bisturi, tubos quebrados, tubos de vidro contendo fluido devem ser descartados em caixas coletoras próprias para material perfuro-cortante. Na falta dessas, utilizar recipientes de paredes rígidas com tampa (latas de leite em pó ou similares).



NOTA

Os recipientes contendo os resíduos potencialmente infectantes devem ser sinalizados como "Infectante" e destinados para coleta de lixo hospitalar ou algo equivalente, respeitando-se as normas nacionais e internacionais que têm por finalidade minimizar riscos ambientais, sanitários e ocupacionais.



Outros materiais

Seringas, luvas, gorro, máscara, avental ou macacão descartável, gaze, algodão e outros materiais potencialmente infectantes devem ser descartados em saco branco de lixo, devidamente identificado para substância infectante.



NOTA

Antes de sair da propriedade, todos os materiais utilizados na colheita, tais como: sondas, imobilizadores (formigas), agulhas metálicas e botas, deverão ser desinfetados, com desinfetantes químicos ou físicos, observando-se o tempo de contato e as indicações para cada situação. Os demais materiais, como os macacões, deverão ser colocados em sacos plásticos para posterior desinfecção e lavagem.

5 - Acondicionamento para remessa de amostras para diagnóstico

O sistema de embalagem, inclusive para transporte terrestre, deve ser envasamento triplo: um recipiente primário, uma embalagem secundária e uma embalagem externa obrigatoriamente rígida (embalagem terciária).

1º Passo

Acondicionar o recipiente que contém a amostra (recipiente primário), identificado de forma clara e legível, em saco plástico vedado hermeticamente.



2º Passo

Envolver este conjunto em manta absorvente, prevenindo possíveis vazamentos.

Importante: Deve-se realizar a desinfecção externa em todas as etapas do processo de acondicionamento da amostra, desde o recipiente primário com a amostra, o saco plástico e a embalagem secundária até a caixa isotérmica

3º Passo

Acondicionar dentro de outro recipiente resistente (embalagem secundária). Como alternativa de embalagem secundária, pode ser utilizada lata de leite em pó ou de achocolatado, por exemplo.



NOTA

Se forem colocados vários recipientes primários frágeis em uma mesma embalagem secundária, eles devem ser envolvidos individualmente ou separados de forma que se evite o contato entre eles

4º Passo

Acomodar o recipiente na caixa isotérmica (embalagem intermediária), que deverá, por sua vez, ser colocada na embalagem terciária (externa). Utilizar gelo reciclável em quantidade compatível com o tamanho da amostra e o tempo para chegada ao laboratório (como alternativa, garrafa pet bem fechada, com água congelada). Preencher o espaço vazio com enchimentos macios (flocos de isopor, jornal, papel toalha).



✓ Use caixas isotérmicas resistentes e em boas condições

NOTA

O transporte de amostras que tenham probabilidade insignificante de conter substâncias infecciosas, como soro e sangue para inquéritos soropidemiológicos ou que os agentes patogênicos tenham sido neutralizados ou inativados de forma a não mais representar qualquer risco à saúde, não está sujeito a esta regulamentação, devendo apenas garantir que a embalagem primária seja estanque e a prova d'água. A embalagem secundária pode ser um saco plástico hermético e a marca externa deve apenas conter a expressão "Amostra Animal Isenta de Agente Infeccioso".

5º Passo

Na parte externa da tampa da caixa isotérmica, afixar a requisição de exame, devidamente preenchida e colocada num saco plástico transparente. Fechar bem a caixa isotérmica e colocá-la dentro da embalagem terciária, que deverá ser rotulada de acordo com as normas nacionais e internacionais. Em lados opostos, colocar a orientação de embalagem: "Este lado para cima".



NOTA

Para o transporte, as embalagens de material biológico referente a espécie diagnóstica devem ser identificadas com:

- ✓ Nome, endereço e telefone do remetente e do destinatário
- ✓ Telefone para emergências
- ✓ A marca "UN 3373" colocada na superfície externa da embalagem terciária, de modo que seja fácil de ver e ler. A designação oficial de transporte "Substância Biológica, categoria B" deverá figurar ao lado da marca



SUBSTÂNCIA BIOLÓGICA
Categoria B

6 - Requisição de exames

INFORMAÇÕES MÍNIMAS NECESSÁRIAS PARA REMESSA DE AMOSTRAS PARA DIAGNÓSTICO

Nome da Propriedade: _____
 Nome do Proprietário: _____
 Endereço: _____ Cidade/Estado: _____
 CEP: _____ e-mail: _____
 Caixa Postal: _____ Celular: _____
 Fone: _____

Dados do Médico Veterinário

Nome: _____ Celular: _____ E-mail: _____
 Fone: _____
 Endereço para envio do resultado: _____ Cidade/Estado: _____
 CEP: _____

Dados das Amostras

Sistemas afetados: Sistema nervoso central Infecções vasculares
 Infecções de mucosa e pele Infecções ósteo-articulares
 Infecções gastrintestinais Infecções do aparelho respiratório

Finalidade do exame: Confirmação de diagnóstico e vigilância Monitoramento
 Movimentação Outra: _____
 Requisito certificação/revalidação _____

Tipo de Amostras: _____
 Soro
 Sangue Total - Anticoagulante: EDTA Outro: _____
 Biópsia - Especificar: sítio da lesão/tecido _____
 Conteúdo gástrico Fezes Sêmen Secreção: _____
 Órgãos: _____
 Embrião Feto Fluido cavitário Placenta/cotilédone
 Outras - Especificar: _____

Informações Complementares:

Informações Clínicas: (descrever objetivamente os achados clínicos mais significativos)

 Dados epidemiológicos relevantes: (área endêmica de alguma doença infecciosa, pessoas envolvidas etc)

 Diagnóstico presuntivo: _____

Formulário detalhado de colheita

Identificação da amostra	Identificação do animal	Espécie	Idade	Sexo	Tipo de amostra	Principal sistema afetado

Data da colheita: _____ Data do envio: _____
 Responsável pela colheita: _____

Pontos importantes no preenchimento da Requisição de Exames

1 - Localização da propriedade

- 1.1 Nome completo (sem abreviações) e endereço do proprietário do animal suspeito.
- 1.2 Nome completo da propriedade ou estabelecimento onde foi colhida a amostra.
- 1.3 Localização que facilite o acesso à propriedade citada.

2 - Identificação do remetente da amostra

- 2.1 Nome completo (sem abreviações) e endereço do responsável pelo encaminhamento da amostra. Deverá constar um número de telefone para casos de emergência.
- 2.2 O responsável pelo preenchimento do formulário e envio da amostra deverá ser um profissional devidamente habilitado para trabalhar com materiais de risco biológico.

3 - Descrição do animal suspeito, rebanho e da amostra

- 3.1 Informar a data da colheita, nome ou número do animal suspeito, idade, sexo, raça e espécie.
 - 3.2 Preencher a finalidade do exame (ex. confirmação de diagnóstico, movimentação, monitoramento). Em caso de confirmação de diagnóstico, descrever quais os sinais clínicos apresentados pelo animal, e a data provável de início da doença e em caso de necropsia, descrever os achados mais significativos.
- Para confirmação de diagnóstico deve-se preencher uma requisição de exames para cada animal**
- 3.3 Informar o número de animais existentes na propriedade, quantos animais apresentaram sinais clínicos semelhantes e quantos vieram a óbito (informar vacinação, vermifugação).
 - 3.4 Informar quais amostras foram remetidas e conservante utilizado.

4 - Informações complementares

Esse espaço é reservado para qualquer outra informação que o técnico considere pertinente (suspeita de zoonoses, informar se há pessoas envolvidas, etc.)

FORMULÁRIO ÚNICO DE REQUISIÇÃO DE EXAMES PARA SÍNDROME NEUROLÓGICA
(versão atualizada - dezembro/2009) Nº _____ (UF)

A		2º Registro Profissional nº _____	
1º Responsável pela colheita da amostra:		Registro Profissional nº _____	
2º Responsável pelo envio:		Telefone: () _____	
Endereço:		Fax: () _____	
Município/UF:			
E-mail:			
B		2º Propriedade:	
1º Proprietário:		Município/UF:	
3º Coordenadas:		Telefone: () _____	
4º Localização:		Fax: () _____	
E-mail:			
C			
1º Espécie:		2º Equívoco <input type="checkbox"/> Ovíno <input type="checkbox"/>	
Bovídeo <input type="checkbox"/> (para bovino importado citar o país de origem: _____)		Caprina <input type="checkbox"/> Suína <input type="checkbox"/> Canina <input type="checkbox"/> Felina <input type="checkbox"/> MH <input type="checkbox"/> MNH <input type="checkbox"/> Animais Silvestres <input type="checkbox"/> (citar a espécie: _____)	
3º Local de origem da amostra (para ruminante):		Estabelecimento de criação <input type="checkbox"/> Hospital <input type="checkbox"/>	
veterinário <input type="checkbox"/> Feiros/aglomeração de animais <input type="checkbox"/>		Outro <input type="checkbox"/> (especificar: _____)	
4º Identificação do animal:		Idade: _____ meses Ração: _____ Sexo: M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	
5º Método para estipular idade (para ruminante):		Registro genealógico ou na fazenda <input type="checkbox"/>	
Cronologia dentária <input type="checkbox"/>		Outro <input type="checkbox"/> (especificar: _____)	
6º O animal ingeriu ração em alguma fase da vida?		Não <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Quando: _____	
7º Hávia outras espécies afetadas?		Não <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Quantos <input type="checkbox"/> mortos <input type="checkbox"/>	
8º Número de animais no rebanho:		doentes <input type="checkbox"/> Cinomose <input type="checkbox"/> Lepptirose <input type="checkbox"/>	
9º O animal morto já foi vacinado para:		Raiva <input type="checkbox"/> Clostridiose <input type="checkbox"/> Outras <input type="checkbox"/> Quando? _____	
10º Botulismo <input type="checkbox"/>			
11º Origem da notificação:		Proprietário <input type="checkbox"/> Terceiro <input type="checkbox"/> Vigilância <input type="checkbox"/> Data da notificação: _____	
12º Data da 1ª visita:		Data provável do início da doença: _____	
13º Tipos de sinais clínicos apresentados (assinalar):			
Morte súbita <input type="checkbox"/>		Paralisia flácida dos membros posteriores <input type="checkbox"/>	
Depressão <input type="checkbox"/>		Paralisia flácida dos membros anteriores <input type="checkbox"/>	
Ataxia <input type="checkbox"/>		Alteração comportamental <input type="checkbox"/>	
Paralisia, mas alergia <input type="checkbox"/>		Fotofobia/aerofobia <input type="checkbox"/> Sialorréia <input type="checkbox"/>	
Priapismo <input type="checkbox"/>		Midríase <input type="checkbox"/> Agressividade <input type="checkbox"/>	
Cegueira <input type="checkbox"/>		Opistótono <input type="checkbox"/> Tetania <input type="checkbox"/>	
Incoordenação <input type="checkbox"/>		Espasmos musculares <input type="checkbox"/>	
14º Apatite anômala <input type="checkbox"/>		Sacrificado: Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
15º Incoordenação <input type="checkbox"/>		Sacrificado: Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
16º Duração dos sinais clínicos (desde o início até a morte/sacrifício): _____ horas		Que percentual? _____ %	
17º Hávia animais que se recuperaram dos sinais clínicos?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
18º Houve contato direto de pessoas com animais suspeitos?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
E			
19º Tipo de amostra encaminhada:		Encéfalo <input type="checkbox"/> Medula <input type="checkbox"/> Visceras/Outros <input type="checkbox"/>	
Quais? _____		Dia e hora da colheita da(s) amostra(s): _____	
20º Dia e hora provável da morte: _____ às _____		Material enviado em: _____	
21º Tempo entre a colheita e a fixação do material: _____ hora(s)			
F			
Observações			
Local/Data: _____			
Assinatura e carimbo			

Alguns pontos importantes no preenchimento da Requisição de Exames Para Síndrome Neurológica

A - Identificação do remetente da amostra:

Nome completo do responsável pela colheita e/ou pelo envio da amostra com o nº do registro profissional, caso seja veterinário oficial, o nº da matrícula e nome da instituição.

B - Localização da propriedade onde foi colhida a amostra:

Nome completo do proprietário do animal e da propriedade ou estabelecimento onde foi colhida a amostra. Se possível, registrar as coordenadas da propriedade e localização que facilite o acesso.

C - Descrição do animal suspeito e do rebanho em que se encontra:

Marcar a espécie animal e no caso de animal silvestre especificar o nome vulgar. Marcar MH (morcego hematófago) e MNH (morcego não hematófago). **Ruminante:** colocar o local de origem da amostra no item 2 e preencher o item 5, referente a ingestão de proteínas, concentrados, ração e suprimento mineral protéico. Informar o rebanho existente, nº de animais com sintomas clínicos e mortos, para animais de companhia ou silvestre desconsiderar essa informação.

D - Ações na propriedade suspeita e os sinais clínicos apresentados.

Colocar a origem da notificação, data da 1ª visita e a data provável do início da doença.

E - Informações sobre a colheita, acondicionamento e conservação da amostra

Pode ser marcado mais de um quadrículo, desde que as amostras pertençam ao mesmo animal. Especificar as amostras encaminhadas, sempre quando "visceras/outras" for marcado.

F - Observações.

Colocar outras informações pertinentes, inclusive informando agressões a pessoas, caso tenham ocorrido.

**INFORMAÇÕES MÍNIMAS NECESSÁRIAS PARA REMESSA DE AMOSTRAS
PARA DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS DE ABELHAS *Apis mellifera***

Nome da Propriedade: _____
 Endereço da Propriedade: _____
 Nome do Proprietário (apicultor): _____
 Endereço: _____ Cidade/Estado: _____
 CEP: _____ e-mail: _____
 Caixa Postal: _____ Celular: _____
 Fone: _____

Dados do Médico Veterinário

Nome: _____ Celular: _____ E-mail: _____
 Fone: _____
 Endereço para envio do resultado: _____ Cidade/Estado: _____
 CEP: _____

Dados das Amostras

Amostras colhidas e seu aspecto no momento da colheita:
 Abelhas do alvado. Aspecto: _____
 Abelhas da área de cria. Aspecto: _____
 Abelhas do chão. Aspecto: _____
 Crias. Aspecto: _____
 Favo de mel. Localização na colmeia. _____
 Outros dados. Especificar: _____

Informações da colmeia

Identificação da colmeia:
 (identifique a colmeia de forma permanente e escreva essa identificação aqui) _____

Condição da colmeia:
 Forte. Obs: _____
 Média. Obs: _____
 Fraca. Obs: _____
 Outras condições. _____

Informações complementares

Adota alimentação suplementar (energética ou protéica)? Especificar e declarar a origem. _____
 Prática apicultura migratória? Para que local? Em que época do ano? _____
 Número total de colmeias na propriedade visitada. _____
 Informações Clínicas:
 (sintomas observados, comportamento, número de colmeias afetadas, etc.): _____

Formulário detalhado de colheita

Identificação da amostra	Identificação da colmeia	Tipo de amostra

Data da colheita: _____ Data do envio: _____
 Responsável pela colheita: _____

**Pontos importantes no preenchimento
da Requisição de Exames**

1 - Localização da propriedade

- 1.1** Nome da propriedade ou estabelecimento onde foi colhida a amostra.
1.2 Endereço da propriedade ou estabelecimento onde foi colhida a amostra (incluir localização que facilite o acesso à propriedade citada).
1.3 Nome completo (sem abreviações) e endereço e telefone do proprietário do apiário.

2 - Identificação do remetente da amostra

- 2.1** Nome completo (sem abreviações), endereço e telefone do responsável pelo encaminhamento da amostra.

3 - Dados das Amostras

- 3.1** Preencher um formulário por colmeia.
3.2 Informar todos os tipos de amostras colhidas em cada colmeia, com as observações pertinentes.
 Não esquecer de indicar o local no interior da colmeia onde o pedaço de favo de mel foi colhido.

4 - Informações da colmeia

- 4.1** Caso o apicultor não adote marcação permanente nas colmeias, fazer marcação em cada uma das colmeias de onde foram colhidas as amostras.

5 - Informações complementares

- 5.1** Detalhar o manejo de alimentação suplementar adotado pelo apicultor (incluindo época de fornecimento às abelhas).
5.2 Caso o apicultor pratique apicultura migratória, indicar os locais para os quais as colmeias são deslocadas em cada época do ano.
5.3 Informar se outros apicultores têm colmeias na mesma propriedade.
5.4 Utilizar o verso do formulário para outras observações que considerar importantes e não contempladas pelos itens mencionados (ex.: histórico do problema etc.)

RUMINANTES, EQUÍDEOS E SUÍDEOS

Autores

Edviges Maristela Pituco
Claudia Del Fava
Claudia Pestana Ribeiro
Josefe Garcia Bersano
Simone Miyashiro

Centro de P & D de Sanidade Animal
Instituto Biológico (APTA/SAA-SP)

Sangue

O sangue representa cerca de 8% do peso corporal de um animal. As análises do sangue são importante apoio ao diagnóstico clínico. Pode ser colhido com seringa e agulha e transferido para recipientes de diferentes capacidades, com ou sem anticoagulante, ou colhido em tubos a vácuo que, por serem herméticos, garantem a esterilidade da amostra, o que é desejável em toda punção venosa. Para serem representativas, as amostras de sangue devem ter sua composição e integridade mantidas durante as fases pré-analíticas de colheita, manuseio, transporte e eventual armazenagem. Antes da colheita de sangue para a realização de exames laboratoriais, é importante conhecer, controlar e, se possível, evitar algumas variáveis que podem interferir na exatidão dos resultados. Classicamente, são referidas como condições pré-analíticas variação na dieta e uso de medicamentos. Outros aspectos, como o uso de gel separador, anticoagulantes e conservantes e a hemólise podem também ser causa de variação dos resultados.



1. Material

Sangue

2. Onde colher

- a) Veia jugular;
- b) Veia coccígea;
- c) Veia mamária; e
- d) em suínos, veia cava cranial

3. Como colher

Utilizar sistema a vácuo ou seringa e agulha



4. Recipiente e quantidade

a) Tubo de ensaio sem anticoagulante: capacidade 10 mL.



b) Tubo de ensaio com EDTA K2: capacidade 5 mL



a) Obtenção de soro

Colher o sangue em **tubo sem anticoagulante**; manter o tubo inclinado em temperatura ambiente até o sangue coagular e retraindo o coágulo, exsudando o soro (30 a 60 min). Transferir o soro para outro tubo (tampa com rosca ou tipo "Eppendorf").

Se for utilizado **tubo com gel separador**, será necessário centrifugar o sangue no mínimo 30 minutos após a colheita e no máximo 2 horas e enviar o soro no próprio tubo.



b) Sangue total

O sangue deverá ser colhido e enviado em **tubo com anticoagulante** (EDTA K2). Homogeneizar suavemente, invertendo o tubo (cerca de 6 vezes)



5. Exames

a) Pesquisa de anticorpos

b) Pesquisa direta do agente

6. Temperatura da amostra para transporte

a e b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

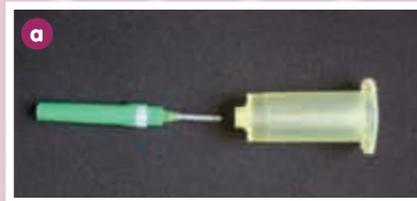
7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

Colheita de sangue com Sistema a Vácuo

PASSO A PASSO

1. Rosquear a agulha no adaptador. Retirar a capa protetora da agulha somente no momento da punção; (figuras a e b)
2. Realizar antisepsia do local escolhido para punção; passar algodão embebido em álcool a 70%, na direção do pelo;
3. Retirar a capa da agulha e fazer o garrote;
4. Puncionar a veia; (figura c)
5. Introduzir o tubo no adaptador, pressionando-o até o limite; (figuras d e e)
6. Esperar o sangue parar de fluir para dentro do tubo, só então retirar o tubo, assegurando a devida proporção sangue/anticoagulante; (figura f)
7. Soltar o garrote e só depois retirar o tubo e em seguida a agulha;
8. Separar a agulha do adaptador e descartá-la em recipiente para perfuro-cortantes.



Colheita de sangue com Seringa e Agulha

PASSO A PASSO

1. Encaixar a agulha na seringa, sem retirar a capa protetora. Certificar-se de que a agulha esteja bem encaixada; (figura a)
2. Movimentar o êmbolo da seringa (para frente e para trás) para retirar o ar; (figura b)
3. Fazer a antissepsia do local escolhido para punção; passar algodão embebido em álcool a 70%, na direção do pelo;
4. Retirar a capa da agulha e fazer o garrote;
5. Introduzir a agulha na veia e puxar o êmbolo da seringa lentamente, para que o sangue possa fluir; (figura c)
6. Colher aproximadamente 10 mL de sangue;
7. Soltar o garrote após a venopunção;
8. Separar a agulha da seringa. Descartar a agulha em recipiente para perfuro-cortantes (figura d).
Lembre-se: Nunca reencapar as agulhas.
9. Transferir o sangue da seringa para um tubo de ensaio com ou sem anticoagulante. Para evitar hemólise, o sangue deve fluir lentamente pela parede do tubo; (figura e)
10. Descartar a seringa em saco plástico apropriado ou no mesmo recipiente em que foi descartada a agulha.

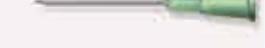
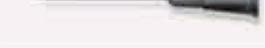


BOAS PRÁTICAS DE COLHEITA PARA PREVENÇÃO DA HEMÓLISE

- Antes de iniciar a punção, deixar que o álcool utilizado na antisepsia seque.
- Evitar usar agulhas de menor calibre.
- Não colher sangue de área com hematoma ou equimose.
- Em colheitas de sangue a vácuo, puncionar a veia do animal com o bisel voltado para cima. Perfurar a veia com a agulha em um ângulo oblíquo de inserção, de 30 graus ou menos. Esse procedimento visa a prevenir o choque direto do sangue na parede do tubo, o que pode hemolisar a amostra, e também a evitar o refluxo do sangue do tubo para a veia do animal. Esperar o sangue parar de fluir para dentro do tubo, antes de trocar o tubo por outro, assegurando a devida proporção sangue/ anticoagulante.
- Tubos com anticoagulante com volume insuficiente ou com excesso de sangue alteram a proporção correta de sangue/aditivo, podendo levar a hemólise e a resultados incorretos.
- Em colheitas com seringa, verificar se a agulha está bem adaptada, a fim de evitar a formação de espuma; não puxar o êmbolo da seringa com muita força. Descartar a agulha, passar o sangue, fazendo-o deslizar cuidadosamente pela parede do tubo e cuidando para que não haja contaminação do bico da seringa com o anticoagulante ou ativador de coágulo contido no tubo.
- Não espetar a agulha na tampa do tubo, para transferência do sangue da seringa para o tubo, porque pode ocorrer uma pressão positiva, o que provoca, além da hemólise, o deslocamento da rolha do tubo.

BOAS PRÁTICAS PÓS-COLHEITA PARA PREVENÇÃO DA HEMÓLISE

- O sangue colhido não deve ficar exposto a temperaturas muito elevadas ou mesmo exposição direta à luz, para evitar hemólise e/ou degradação.
- Homogeneizar a amostra de sangue com anticoagulante suavemente por inversão de 5 a 10 vezes, não agitar o tubo.
- O sangue total nunca deve ser congelado, se necessário estocar, manter refrigerado, lembrando que deverá chegar no laboratório dentro de 48 horas.
- O soro poderá ser congelado a - 20°C, por até um mês. Nunca congelar soro com coágulo em tubo sem gel separador.
- Não deixar o sangue em contato direto com gelo.
- Não centrifugar a amostra de sangue em tubo para obtenção de soro antes do término da retração do coágulo, pois a formação do coágulo ainda não está completa, podendo levar à ruptura celular.
- Quando utilizar um tubo primário com gel separador, a separação (centrifugação) do soro deve ser efetuada dentro de no mínimo 30 minutos e no máximo 2 horas após a colheita.
- Tubos com gel separador não podem ser centrifugados em baixas temperaturas, uma vez que as propriedades de fluxo do gel relacionam-se com a temperatura. A formação da barreira de gel pode ser comprometida caso o tubo seja resfriado antes ou durante a centrifugação. Para otimizar o fluxo e evitar aquecimento, ajustar as centrífugas refrigeradas a 25° C.
- Não usar o freio da centrífuga com o intuito de interromper subitamente a centrifugação dos tubos, pois esta brusca interrupção pode provocar hemólise.

TABELA DE MEDIDAS DE AGULHAS			
Métrico (mm)	Gauge/ Polegadas	Cor do Canhão A cor do canhão define o diâmetro da agulha	
1,60 X 40	16G 1 1/2		BRANCO
1,20 X 25 1,20 X 40	18G 1 18G 1 1/2		ROSA
1,00 X 25 1,00 X 30	19G 1 19G 1 1/4		CREME
0,80 X 25 0,80 X 30 0,80 X 40	21G 1 21G 1 1/4 21G 1 1/2		VERDE
0,70 X 25 0,70 X 30	22G 1 22G 1 1/4		PRETO
0,55 X 20	24G 3/4		VIOLETA
0,45 X 13	26G 1/2		CASTANHO
0,38 X 13	27 5G 1/2		CINZA

Indicações de uso

Punção venosa: **Branca** – bovinos e bubalinos; **Rosa** – bovinos, equídeos, suídeos e pequenos ruminantes; **Creme** – pequenos ruminantes; **Verde** – pequenos ruminantes

Punção articular: verde, violeta, castanho e cinza; **Aves** – preto e verde

EXAMES	TUBOS PARA COLHEITA DE SANGUE				
	PRODUTO FINAL	PREPARO	TUBOS	TUBOS COM ANTICOAGULANTE	TUBOS SEM ANTICOAGULANTE
Isolamento Biológico/Molecular	Sangue total Plasma Anel de Leucócitos	Centrifugação	 Tampa lilás	EDTA K2 DIPOTÁSSICO	
Isolamento Biológico/Molecular	Sangue total Plasma Anel de Leucócitos	Centrifugação No máximo em até 2 horas após a colheita	 Tampa branca	EDTA K2 DIPOTÁSSICO COM GEL SEPARADOR	
Exames Bioquímicos e toxicológicos	Sangue total Plasma	Centrifugação	 Tampa verde	HEPARINA	
Pesquisas de anticorpos	Codúgulo Soro	Repouso 30 a 60 min.	 Tampa vermelha	TUBO SILICONIZADO	
Pesquisas de anticorpos	Codúgulo Soro separado por Gel	Centrifugação (1500-2000g/10min), no máximo 30 minutos e no máximo 2 horas após a colheita	 Tampa amarela	TUBO SILICONIZADO COM GEL SEPARADOR	

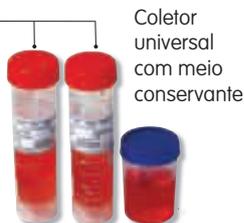
Pele e mucosas

A etiologia das enfermidades que afetam a pele é muito variada, incluindo, entre outras, causas parasitárias, bacterianas, fúngicas, virais, neoplásicas, nutricionais, tóxicas, físicas, congênitas e genéticas. O diagnóstico não é tão fácil, pois a pele está exposta a fatores externos (contaminação e efeito do sol) que modificam substancialmente o aspecto e a evolução das lesões. Das doenças que acometem as mucosas, a principal é a estomatite, que abrange o complexo de enfermidades vesiculares, tais como a febre aftosa, a estomatite vesicular e a varíola bovina, que têm em comum a propriedade de provocar nas espécies afetadas a formação de vesículas contendo líquido incolor ou ligeiramente sanguinolento, típico dessas doenças. O diagnóstico se baseia em informações clínicas, epidemiológicas e laboratoriais. **O diagnóstico deve ter sempre um caráter diferencial.** Os materiais de eleição para diagnóstico são fragmentos de epitélio e de mucosas e exsudato (líquido vesicular) provenientes de lesões linguais, bucais, podais ou de úbere. Além disso, para pesquisa direta de agente em possíveis portadores do vírus de febre aftosa, utiliza-se material esofágico-faríngeo. A pesquisa de anticorpos em soro tem sido utilizada para demonstrar ausência de infecção, determinar a prevalência em estudos soropidemiológicos, avaliar a resposta humoral após vacinação e desafio para os programas de erradicação e vigilância. Em raras situações, a sorologia pode ser utilizada como ferramenta de diagnóstico definitivo.

Principais doenças de pele e mucosas e espécies acometidas					
DOENÇAS	ESPÉCIES ACOMETIDAS				
					
Febre aftosa	X	X	X	X	-
Estomatite vesicular	X	X	X	X	X
Língua azul	X	-	X	X	-
Varíola/vaccínia (orthopoxvirus)	X	X	X	X	X
Pseudovaríola	X	-	-	-	-
Ectima contagioso	-	-	X	X	-
Rinotraqueite infecciosa bovina/vulvo vaginite postular infecciosa	X	-	-	-	-
Diarréia viral bovina	X	-	-	-	-
Doença Vesicular do suíno	-	X	-	-	-
Exantema Vesicular do suíno	-	X	-	-	-

Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças de pele e mucosas

Tubos (Tipo Falcon) com meio conservante



Coletor universal com meio conservante



Luvas



"Punch" para biópsia



Lâmina de bisturi



Microtubos tipo "Eppendorf"



Tubo tipo KMA (tampa com rosca)



Tubos a vácuo para colheita de sangue, com gel separador, sem e com anticoagulante



Tubos com tampa com rosca



Coletor de raspado esofágico-faríngeo (copo de "Probang")



Porta-lâminas



Suabes e meios conservantes para transporte



Papel-toalha



Lâmina de bisturi



Pinça



Coletor universal



Cabo de bisturi



Tesoura cirúrgica



Agulha para colheita de sangue a vácuo



Lâmina para microscopia



Sistema para colheita de sangue a vácuo



Seringa e agulhas

Amostras para diagnóstico de doenças de Pele e Mucosas

1. Material

Líquido e tecido epitelial vesicular

2. Como colher

a) Líquido Vesicular.

Caso as vesículas estejam íntegras (não rompidas), colher o líquido vesicular, com o auxílio de seringa e agulha estéril

b) Tecido Epitelial Vesicular.

Colher, com tesoura ou bisturi e pinça estéril, fragmentos de epitélio vesicular, incluindo as bordas das lesões das regiões oral, nasal, podal e de glândula mamária



Colhendo líquido vesicular de um bovino afetado por febre aftosa



Extensa lesão de boca em um bovino afetado por febre aftosa

NOTA

As patas e úberes, antes da colheita, devem ser lavados com água limpa para remoção de sujeiras (não utilizar nenhum tipo de sabão ou antisséptico)



Lesões no espaço interdigital de um bovino



Lesões no teto de vaca, provocadas pelo vírus da varíola bovina

3. Quantidade

a) Todo o conteúdo da vesícula

b) Cerca de 2 g de epitélio (1 a 2 cm²)

4. Meio

a) Nenhum

b) Líquido de Vallée com pH 7,4 a 7,8; ou Meio Eagle 2 vezes concentrado, com antibiótico e pH 7,2-7,6



a) Tubo de ensaio estéril com tampa com rosca (5 mL)

b) Tubo de ensaio estéril contendo meio apropriado em quantidade suficiente para que as amostras fiquem submersas



6. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

IMPORTANTE

No caso de suspeita de doença vesicular, o serviço oficial deverá ser imediatamente informado.

As amostras só devem ser colhidas por profissionais do serviço oficial e enviadas sob condições de segurança para laboratórios autorizados, para prevenir a disseminação da doença.

8. Exames

Pesquisa direta do agente

1. Material

Líquido esofágico -
faríngeo (LEF)

2. Onde colher

Mucosa da região faríngea
e anterior do esôfago

3. Como colher

- Antes da colheita, os animais deverão permanecer em jejum, se possível, por um período de 12 horas;
- Uma hora antes da colheita, administrar água para eliminar eventuais restos alimentares;
- Colher as amostras de LEF por meio de coletores (copo Probang) previamente esterilizados, utilizando um para cada animal. Se não houver um número suficiente de coletores, realizar a lavagem em água limpa e desinfetar em água fervente antes de colher amostra em outro animal e assim sucessivamente.
- Introduzir o coletor por sobre a língua do animal pressionando-o levemente na glote até o copo ser engolido pelo animal (certificar que o coletor não esteja na traquéia, situação em que o animal irá tossir, tentando expelir o objeto);
- Realizar o raspado da mucosa esofágica-faríngea, fazendo movimentos suaves com o coletor (até 5 vezes) e retirá-lo com cuidado para não derramar o conteúdo;
- Transferir o material LEF para frasco de boca larga e adicionar uma quantidade igual de Meio Earle 2X;
- Fechar o frasco, agitar e realizar a desinfecção externa.



Introdução do coletor na boca do animal



Realização dos movimentos para a colheita do LEF



Transferir o conteúdo do copo coletor para frasco de boca larga

NOTA

De acordo com as diretrizes dos programas de saúde animal, a colheita de material esofágico-faríngeo deverá ser realizada somente pelo Serviço Veterinário Oficial.

4. Quantidade

Volume de muco
(ideal: 15 mL, mínimo:
5 mL) diluído em igual
volume de meio

5. Meio

Earle 2 vezes
concentrado, com
antibiótico e pH 7,4-7,6

6. Recipiente

Frasco de boca
larga, com tampa de
rosca, esterilizado

7. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C); ou Congelada (-20°C)

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

9. Exames

Pesquisa direta do agente
(Febre Aftosa)

NOTA

Amostras para ensaios com fins legais devem ser lacradas ou seladas de modo que o acesso a elas seja possível somente pelo rompimento do lacre ou selo.

1. Material

Exsudato (secreções)

2. Onde colher

Mucosas oral, nasal ou outro tecido afetado por um processo inflamatório

3. Como colher

Colher com suabe estéril, friccionando energicamente o local

NOTA

Solicitar ao laboratório o meio apropriado.



NOTA

Utilizar um suabe para cada amostra.

4. Exames

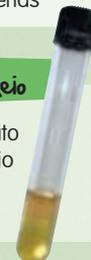
a) Pesquisa de vírus

b) Pesquisa de bactérias

5. Meio

a) Eagle 2 vezes concentrado, com antibiótico e 10% Soro Fetal Bovino (pH 7,4-7,6)

b) Tioglicolato de sódio



6. Recipiente

Tubo de ensaio esterilizado



Acondicionando suabe em meio Tioglicolato de sódio

7. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

1. Material

Biópsia de pele e mucosa

2. Onde colher

De preferência na área de transição com e sem lesão

3. Como colher

Com "punch", tesoura, pinça e bisturi



- Realizar tricotomia e antissepsia;
- Inserir o punch, girá-lo e retirar fragmento;
 - Com auxílio de pinça e tesoura, cortar o fragmento para a biópsia;
 - Fragmento extraído;
 - Submergir um fragmento em meio Eagle (ou em solução salina); e
 - outro fragmento em formol 10%.

4. Exames

- a) Pesquisa direta do agente | b) Histopatológico

5. Quantidade

a e b) Fragmentos com, no mínimo, 0,5 cm de diâmetro por 0,3 cm de espessura

6. Meio

a) 3 mL de Eagle ou solução salina fisiológica - (NaCl 0,9%) estéril

b) Formol tamponado 10% (Volume de formol, pelo menos, 10 vezes maior que o volume de tecido a ser fixado)

7. Recipiente

a) Tubo de ensaio esterilizado, capacidade de acordo com o tamanho do fragmento

b) Frasco, capacidade de acordo com o tamanho do fragmento

8. Temperatura da amostra para transporte

a) Refrigerada (+2°C a +8°C)

b) Ambiente ou Refrigerada (+2°C a +8°C). **Nunca congelar**

9. Tempo crítico para chegada ao laboratório

a) Até 48 horas

b) Remeter no mesmo tempo que as amostras refrigeradas. **Os fragmentos em solução de formol 10%, mesmo não completamente fixados, podem ser enviados ao laboratório.**

1. Material

Raspado de pele



2. Onde colher

Na periferia das áreas lesionadas

3. Como colher

Fazer o raspado profundo com lâmina de bisturi



4. Quantidade

Cerca de 1g



5. Meio

Nenhum

6. Recipiente

Coletor universal



7. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada
(+2°C a +8°C)

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas



9. Exames

Pesquisa direta do agente

1. Material

Sangue

2. Onde colher

- a) Veia jugular;
- b) Veia coccígea;
- c) Veia mamária; e
- d) em suínos, veia cava cranial

3. Como colher

Utilizar sistema a vácuo ou seringa e agulha



4. Recipiente e quantidade

a) Tubo de ensaio sem anticoagulante: capacidade 10 mL.



b) Tubo de ensaio com EDTA K2: capacidade 5 mL



a) Obtenção de soro

Colher o sangue em **tubo sem anticoagulante**; manter o tubo inclinado em temperatura ambiente até o sangue coagular e retraindo o coágulo, exsudando o soro (30 a 60 min). Transferir o soro para outro tubo (tampa com rosca ou tipo "Eppendorf").

Se for utilizado **tubo com gel separador**, será necessário centrifugar o sangue no mínimo 30 minutos após a colheita e no máximo 2 horas e enviar o soro no próprio tubo.



b) Sangue total

O sangue deverá ser colhido e enviado em **tubo com anticoagulante** (EDTA K2). Homogeneizar suavemente, invertendo o tubo (cerca de 6 vezes)



5. Exames

a) Pesquisa de anticorpos

b) Pesquisa direta do agente

6. Temperatura da amostra para transporte

a e b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

Sistema respiratório

As doenças respiratórias são multifatoriais e provocam mortalidade, especialmente em animais jovens. Alterações climáticas, manejo zootécnico e instalações inadequadas estressam e debilitam o animal, predispondo-o a infecções. O diagnóstico deve basear-se no conjunto de informações, tanto clínicas quanto epidemiológicas e na confirmação laboratorial. O material clínico de eleição para o diagnóstico diferencial deve incluir tecido pulmonar e linfonodos regionais e secreções respiratórias e oculares. O soro sanguíneo pode auxiliar no diagnóstico.

Principais doenças do sistema respiratório e espécies acometidas

DOENÇAS	ESPÉCIES ACOMETIDAS				
					
Tuberculose (<i>Mycobacterium bovis</i>) e outras micobacterioses	X	X	X	X	X
Linfadenite caseosa	-	-	X	X	-
Pleuropneumonia contagiosa (Micoplasmose, Actinobacilose)	X	X	X	X	X
Pneumonia causada por agentes piogênicos	X	X	X	X	X
Doença de Aujeszky	-	X	-	-	-
Rinite atrófica (<i>Bordetella bronchiseptica</i> e <i>Pasteurella multocida</i>)	-	X	-	-	-
Influenza	X	X	X	X	X
Vírus Sincicial Respiratório	X	-	-	-	-
Mormo	-	-	-	-	X
Rinopneumonia equina	-	-	-	-	X
Arterite viral equina	-	-	-	-	X
Maedi-Visna	-	-	X	-	-

Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças do sistema respiratório



Meios para transporte de amostras (BHI, A3XB, Eagle)



Tubos a vácuo para colheita de sangue, com gel separador, sem e com anticoagulante



Microtubos tipo "Eppendorf"



Suabe estéril (Comercial)



Agulha para colheita de sangue a vácuo



Tubo tipo KMA (tampa com rosca)



Sistema para colheita de sangue a vácuo



Tubos com tampa com rosca



Cary Blair



Tesouras cirúrgicas



Amostras para diagnóstico de doenças do sistema respiratório

1. Material

Pulmão e linfonodos

2. Onde colher

Órgão acometido e linfonodos regionais



Lesões caseosas em pulmão de animal acometido por tuberculose

3. Como colher

Com tesoura e pinça estéril, colher fragmentos das áreas com lesões (caseosa, purulenta, marmorizada, outras)



NOTA

Fragmento de lesão é o material de eleição para diagnóstico de tuberculose.

4. Exames

a) Pesquisa direta do agente | b) Histopatológico

5. Quantidade

a) Fragmentos de 20 g e, pelo menos, um linfonodo regional | b) Fragmentos de 3x1x1 cm de cada órgão

6. Meio

a) Nenhum | b) Formol tamponado 10% (volume de formol, pelo menos 10 vezes maior que o volume de tecido a ser fixado)

7. Recipiente

a) Coletor universal estéril | b) Frasco, capacidade de acordo com o tamanho do fragmento

8. Temperatura da amostra para transporte

a) Refrigerada (+2°C a +8°C) | b) Ambiente ou Refrigerada (+2°C a +8°C)

9. Tempo crítico para chegada ao laboratório

a) Até 48 horas | b) Remeter no mesmo tempo que a amostra refrigerada. **Os fragmentos em solução de formol 10%, mesmo não completamente fixados, podem ser enviados ao laboratório**

1. Material

Secreções



2. Onde colher

Narinas

3. Como colher

Limpar o local com gaze estéril umedecida em solução fisiológica, retirando crosta, se houver. Colher com suabe estéril, friccionando energeticamente o local, utilizando um suabe para cada narina. Submergir o suabe no meio para transporte indicado.



4. Exames

a) Pesquisa de vírus | b) Pesquisa de bactérias

a) Submergir o suabe em 2 mL de Eagle 2 vezes concentrado, com antibiótico

b) Submergir o suabe em 2 mL de: A3XB para *Mycoplasma spp*; e Tioglicolato de sódio, BHI ou Cary Blair para outras bactérias



6. Recipiente

Tubo de ensaio estéril com meio apropriado

7. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

NOTA

Soro sanguíneo pode auxiliar no diagnóstico de algumas doenças respiratórias; por esse motivo, enviar o soro junto com o material para pesquisa direta do agente.

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

1. Material

Sangue

2. Onde colher

- a) Veia jugular;
- b) Veia coccígea;
- c) Veia mamária; e
- d) em suínos, veia cava cranial

3. Como colher

Utilizar sistema a vácuo ou seringa e agulha



4. Recipiente e quantidade

a) Tubo de ensaio sem anticoagulante: capacidade 10 mL.



b) Tubo de ensaio com EDTA K2: capacidade 5 mL



a) Obtenção de soro

Colher o sangue em **tubo sem anticoagulante**; manter o tubo inclinado em temperatura ambiente até o sangue coagular e retraindo o coágulo, exsudando o soro (30 a 60 min). Transferir o soro para outro tubo (tampa com rosca ou tipo "Eppendorf").

Se for utilizado **tubo com gel separador**, será necessário centrifugar o sangue no mínimo 30 minutos após a colheita e no máximo 2 horas e enviar o soro no próprio tubo.



b) Sangue total

O sangue deverá ser colhido e enviado em **tubo com anticoagulante** (EDTA K2). Homogeneizar suavemente, invertendo o tubo (cerca de 6 vezes)



5. Exames

a) Pesquisa de anticorpos

b) Pesquisa direta do agente

6. Temperatura da amostra para transporte

a e b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

Sistema gastrointestinal

Dada a importância da alimentação nos animais de produção e a alta incidência de problemas com ela relacionados, faz-se necessária uma avaliação do manejo e das instalações, assim como uma inspeção dos alimentos, armazéns e áreas de pastoreio. As características da alimentação e seu manejo podem ser a origem de muitos problemas, principalmente digestivos e metabólicos. Para pesquisar a causa do distúrbio, além do exame clínico geral, testes complementares de amostras de alimento, do suco ruminal, do sangue e/ou das fezes são de grande valor no reconhecimento e na diferenciação de doenças dos órgãos digestivos.

Principais doenças do sistema gastrointestinal e espécies acometidas

DOENÇAS	ESPÉCIES ACOMETIDAS				
					
TGE Gastriterite Transmissível	-	×	-	-	-
Enterites bacterianas (Colibacilose, salmonelose, campilobacteriose)	×	×	×	×	×
Disenteria suína (<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>)	-	×	-	-	-
Enterotoxemia (<i>Clostridium perfringens</i>)	×	×	×	×	×
Isosporose (<i>Isospora suis</i>)	-	×	-	-	-
Verminoses ou Helmintoses	×	×	×	×	×
Rotavirose em animais jovens	×	×	×	×	×
Diarréia Viral Bovina	×	-	-	-	-
Febre Catarral Maligna	×	-	-	-	-
Intoxicações	×	×	×	×	×

Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças do sistema gastrintestinal



Tubos a vácuo para colheita de sangue, com gel separador, sem e com anticoagulante (EDTA e heparina)

Adaptadores para colheita de sangue a vácuo



Microtubos tipo "Eppendorf"



Sistema para colheita de sangue a vácuo



Seringa e agulhas esterilizadas



Tubo tipo KMA (tampa com rosca)

Tubo com tampa com rosca



Amostras para diagnóstico de doenças do sistema gastrointestinal

1. Material

Conteúdo ruminal

2. Como colher

Por sonda gástrica ou ruminocentese

Introduzir a sonda gástrica via oral e retirar o líquido ruminal, criando vácuo por um sistema manual ou bomba elétrica. No caso de ruminocentese, a punção é feita no abdômen esquerdo do animal, no ponto médio entre a última costela e articulação femorotibiopatelar.

Fazer tricotomia e antisepsia numa área de 5cm x 5cm. Fazer aplicação subcutânea de 2 a 3 mL de lidocaína 2%. Introduzir a cânula ventrocranial e aspirar o conteúdo com seringa de 20 mL. Se ocorrer obstrução da agulha, injetar ar com outra seringa. Obter de 3 a 10 mL de líquido ruminal. Antes de retirar a agulha, introduzir 5 mL de solução fisiológica estéril, para evitar aderência. Finalmente, retirar seringa e agulha, de forma suave e conjunta.



3. Quantidade

Cerca de 10 mL

4. Meio

Nenhum

5. Recipiente

Frasco estéril

6. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C) ou Congelada (-20°C)

NOTA

Resfriar ou congelar o mais rápido possível após a colheita fazendo chegar ao laboratório, nessas condições.

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

8. Exames

Toxicológicos

1. Material

Fezes



2. Como colher

Diretamente do reto (utilizando luva) ou da porção central do bolo fecal (utilizando espátula), imediatamente após defecação



NOTA

Em caso de material de necrópsia, enviar um fragmento de alça intestinal com o conteúdo fecal, amarrando as extremidades com barbante. Além disso, enviar fragmentos de fígado e rim, uma parte refrigerada para exames toxicológicos e outra parte em formol a 10% para exames histopatológicos. A identificação de substância tóxica nestes órgãos pode auxiliar no diagnóstico da causa morte.



3. Quantidade

20 g de fezes por animal. No caso de rebanhos, colher 10 a 15 amostras de cada faixa etária. Utilizar um frasco por animal.



4. Meio

Nenhum

5. Recipiente

Coletor universal estéril

6. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

8. Exames

Pesquisa direta do agente

1. Material

Alimentos para nutrição animal

2. O que colher

Ração comercial, grãos, forragens frescas e conservadas (silagem e feno), restos de cultura, palhadas e suplementos

3. Como colher

Retirar amostras parciais de cada alimento a ser analisado, colhidas em diferentes pontos do local de interesse: campo, armazém, sacarias, cocho, silos etc. Dessa amostra média, após homogeneização, retirar uma única amostra, que deve ser representativa da média do material a ser analisado.

NOTA

Nunca retirar a amostra de um único ponto, pois não será representativa e não permitirá conclusões quanto à qualidade do produto.



4. Quantidade

a) 1 kg para rações, grãos e concentrados, entre outros alimentos.

b) 2 kg para alimentos volumosos, como silagem, feno e para alimentos que tem tendência à separação como rações e concentrados contendo uréia, farelo de algodão, entre outros produtos.

NOTA

Efetuar as colheitas em vários pontos, principalmente para produtos que não apresentam uma homogeneidade perfeita ou que tenham tendência à separação.

5. Recipiente

Sacos plásticos resistentes para produtos sólidos

Frascos de polietileno para produtos líquidos (melaço, gordura)

6. Temperatura da amostra para transporte

a) Ambiente (material seco)

b) Refrigerada (+2°C a +8°C) para material verde ou úmido

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

8. Exames

Análise química e pesquisa de agente (toxinas e bactérias, entre outros agentes)

1. Material

Sangue

2. Onde colher

- a) Veia jugular;
- b) Veia coccígea;
- c) Veia mamária; e
- d) em suínos, veia cava cranial

3. Como colher

Utilizar sistema a vácuo ou seringa e agulha



4. Recipiente e quantidade

a) Tubo de ensaio sem anticoagulante: capacidade 10 mL

b) Tubo de ensaio com EDTA K2: capacidade 5 mL

c) Tubo de ensaio com heparina: capacidade de 5 a 10 mL



a) Obtenção de soro

Colher o sangue em **tubo sem anticoagulante**; manter o tubo inclinado em temperatura ambiente até o sangue coagular e retraindo o coágulo, exsudando o soro (30 a 60 min). Transferir o soro para outro tubo (tampa com rosca ou tipo "Eppendorf").

Se for utilizado **tubo com gel separador**,

será necessário centrifugar o sangue no mínimo 30 minutos após a colheita e no máximo 2 horas e enviar o soro no próprio tubo.



b e c) Sangue total

O sangue deverá ser colhido e enviado em **tubo com anticoagulante** (EDTA ou heparina). Homogeneizar suavemente, invertendo o tubo (cerca de 6 vezes)



EDTA



Heparina

5. Exames

a) Pesquisa de anticorpos

b) Pesquisa direta do agente

c) Toxicológicos e bioquímicos

6. Temperatura da amostra para transporte

a, b e c) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

Sistema reprodutor e urinário

Os problemas reprodutivos estão associados a repetição de cio, infertilidade, descarte prematuro de reprodutores, abortamento, mumificação fetal, nascimento de bezerros com malformação e fracos, entre outros fatores. A etiologia das doenças da reprodução é multifatorial, podendo a causa ser infecciosa ou não infecciosa, e requer diagnóstico diferencial para identificação do agente. Para tanto, devem ser examinadas prioritariamente amostras de tecidos fetais refrigerados e fixadas em formol, secreções cervicovaginal e prepucial. A pesquisa de anticorpos no soro sanguíneo pode auxiliar no diagnóstico.

Principais doenças do sistema reprodutor e urinário e espécies acometidas

DOENÇAS	ESPÉCIES ACOMETIDAS				
					
Brucelose	X	X	X	X	X
Leptospirose	X	X	X	X	X
Campilobacteriose Genital	X	-	-	-	-
Micoplasmose	X	X	X	X	X
Neosporose	X	-	X	X	X
Toxoplasmose	X <small>(raro)</small>	X	X	X	X
Tricomoniase Genital Bovina	X	-	-	-	-
Rinotraqueíte infecciosa bovina/ Vulvo vaginite postular infecciosa	X	-	-	-	-
Diarréia viral bovina	X	-	-	-	-
Parvovirose	-	X	-	-	-
Doença de Aujeszky	-	X	-	-	-
Peste suína clássica	-	X	-	-	-
Síndrome Reprodutiva e Respiratória dos Suínos (SRRS)	-	X	-	-	-
Circovirose	-	X	-	-	-
Clamidiose	X	-	X	-	-
Arterite viral equina	-	-	-	-	X
Aborto equino por herpesvirus	-	-	-	-	X

Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças do sistema reprodutor e urinário



Suabe estéril



Suabe estéril



Pipeta de inseminação artificial

Suabe acoplado em pipeta de inseminação artificial



Agulha para colheita de sangue a vácuo



Sistema para colheita de sangue a vácuo



Meios para transporte de secreções (BHI, A3XB, Eagle e Lactopep)



Tubos a vácuo para colheita de sangue, com gel separador, sem e com anticoagulante



Saco plástico

Coletor universal estéril



Tábua para corte de órgãos



Pedra para afiar facas



Facas

Tesoura para destringir ossos



Microtubos tipo "Eppendorf"



Tubo com tampa com rosca



Papel toalha



Tubo tipo KMA (tampa com rosca)



Gaze



Palhetas de sêmen

Amostras para diagnóstico de doenças do sistema reprodutor e urinário

1. Material

Fetos de até 2Kg

2. O que colher

Feto inteiro



Feto ovino



Feto bovino



Feto caprino



Fetos suínos

3. Recipiente

Saco plástico
(no mínimo,
3 sacos para cada feto)

4. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

5. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

NOTA

- ✓ Não congelar.
- ✓ O laboratório irá necropsiar e colher as amostras para os diversos exames.
- ✓ Colher soro sanguíneo da fêmea que abortou.

6. Exames

Pesquisa direta e indireta do agente e exame histopatológico

1. Material

Feto e natimorto com mais de 2 Kg



2. O que colher

Fígado, pulmão, baço, sistema nervoso central, coração, rim, timo e fluidos corporais (líquido toracoabdominal ou pericárdico e conteúdo gástrico)



Colhendo conteúdo gástrico

3. Como colher

Necropsiar e colher os fragmentos de órgãos com pinça e tesoura esterilizadas. Escolher parte do órgão com lesão, se não houver lesão, colher aleatoriamente. Colher os fluidos corporais com seringa e agulha esterilizadas

4. Exames

- a1) Pesquisa direta do agente
- a2) Anticorpos



- b) Histopatológico



5. Quantidade

- a1) Fragmentos de cada órgão com cerca de 20 g
- a2) 3 mL de cada fluido
- b) Fragmento de cada órgão com cerca de 3x3x1 cm

6. Meio

- a) Nenhum
- b) Órgãos fixados com formol tamponado 10% (volume de formol, pelo menos 10 vezes maior que o volume de tecido a ser fixado).

7. Recipiente

- a1) Órgãos: saco plástico ou coletor universal.
- a2) Fluido: tubo de ensaio esterilizado ou coletor universal
- b) Frasco; capacidade de acordo com o tamanho do fragmento

8. Temperatura da amostra para transporte

- a) Refrigerada (+2°C a +8°C)
- b) Ambiente ou Refrigerada (+2°C a +8°C).
Nunca congelar

9. Tempo crítico para chegada ao laboratório

- a) Até 48 horas
- b) Remeter no mesmo tempo que a amostra refrigerada. **Os fragmentos em solução de formol 10%, mesmo não completamente fixados, podem ser enviados ao laboratório**

1. Material

Placenta

2. Como colher

Escolher sempre áreas de transição do tecido com e sem lesão. Nos ruminantes, colher algumas carúnculas



3. Exames

a) Pesquisa direta do agente | b) Exame histopatológico



4. Quantidade

a) 20 g

b) Fragmento de 3x3x1 cm

5. Meio

a) Nenhum

b) Formol tamponado 10% (Volume de formol, pelo menos 10 vezes maior que o volume de tecido a ser fixado)

6. Recipiente

a) Saco plástico ou coletor universal

b) Frasco; capacidade de acordo com o tamanho da peça

7. Temperatura da amostra para transporte

a) Refrigerada (+2°C a +8°C)

b) Ambiente ou Refrigerada (+2°C a +8°C).

Nunca congelar

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

a) Até 48 horas

b) Remeter no mesmo tempo que a amostra refrigerada. **Os fragmentos em solução de formol 10%, mesmo não completamente fixados, podem ser enviados ao laboratório**

1. Material

Sêmen

2. Como colher

Excitar o touro com fêmea ou manequim, ou usar eletroejaculador. Colher o sêmen, utilizando vagina artificial



FOTO: CRIVALDOA



FOTO: CRIVALDOA

3. Quantidade

Sêmen *in natura*: 0,5 mL
Sêmen industrializado:
10 palhetas de 0,5 mL



4. Recipiente

Palheta ou tubo de ensaio esterilizado

5. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)



NOTA

- ✓ O volume de sêmen a ser enviado ao laboratório depende das análises que serão realizadas; na dúvida, consultar o laboratório.
- ✓ Identificar individualmente as amostras.

6. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

7. Exames

Pesquisa direta do agente

1. Material

Muco prepucial

2. Onde colher

Cavidade prepucial

3. Como colher

Técnica do suabe:

Fazer a tricotomia do óstio prepucial e lavar externamente o prepúcio, utilizando apenas água, e enxugar com papel toalha. Colher muco, introduzindo no fundo de saco da cavidade prepucial um suabe estéril acoplado a uma pipeta de inseminação artificial. Friccionar o suabe nas mucosas prepucial e peniana. Retirar o suabe e submergi-lo no meio para transporte apropriado. Utilizar um suabe para cada amostra.



4. Exames

a) Pesquisa de vírus

b) Pesquisa de bactérias

c) Pesquisa de *Tritrichomonas foetus*

NOTA

✓ Antes da colheita, manter o touro em repouso sexual no mínimo 07 dias.

✓ Evitar contaminação do muco com urina.

✓ Quando for o caso, colher primeiro o suabe prepucial e depois proceder ao lavado.

✓ Solicitar ao laboratório os meios apropriados.

5. Meio

a) Submergir o suabe em 2 mL de Eagle 2 vezes concentrado, com antibiótico

b) Submergir o suabe em 2 mL de: Tioglicolato de sódio ou BHI (*Campylobacter* spp), A3xB *Mycoplasma* spp) e Cary Blair (outras bactérias)

c) Submergir o suabe em 10 mL de Lactopep de Lactopep (0,5 g de Lactopep para 10 mL de solução salina 0,85%)



6. Recipiente

Tubo de ensaio

7. Temperatura da amostra para transporte

a e b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

c) Ambiente

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

a e b) Até 48 horas

c) Até 6 dias

1. Material

Muco prepucial

2. Onde colher

Cavidade prepucial

3. Como colher

Técnica do lavado prepucial:

Fazer a tricotomia do óstio prepucial e lavar externamente o prepúcio utilizando apenas água. Enxugar com papel toalha. Proceder à lavagem da cavidade prepucial, utilizando uma pipeta de inseminação artificial acoplada a um tubo flexível ligado a uma seringa com 40 mL de solução salina estéril 0,85%. Introduzir a pipeta até o fundo de saco da cavidade prepucial e injetar o volume total da solução salina. Retirar a pipeta e obliterar o óstio prepucial com uma das mãos e, com a outra, massagear vigorosamente o prepúcio por um minuto. Liberar o óstio prepucial e recolher o líquido no frasco contendo meio Lactopep (em pó). Homogeneizar e completar o volume com solução salina, até obter 40 mL.



NOTA

- ✓ Antes da colheita, manter o touro em repouso sexual de 07 a 10 dias.
- ✓ Evitar contaminação do muco com urina.
- ✓ São necessárias 3 colheitas, no mínimo, com intervalo de 7 dias, mantendo-se o repouso sexual.

4. Quantidade

40 mL de solução salina 0,85%

5. Meio

Lactopep (proporção: 2 g/40 mL de solução salina)

6. Recipiente

Tubo cônico



7. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 06 dias

9. Exame

Pesquisa de *Tritrichomonas foetus*

1. Material

Muco cervicovaginal



2. Onde colher

Cavidade vaginal

3. Como colher

Lavar a região vulvar apenas com água e secar com papel toalha. Adaptar o suabe a uma pipeta de inseminação artificial e com auxílio de um espêculo, introduzir o suabe na vulva até a cêrvix. Friccionar a mucosa, retirar o suabe e submergir em tubo de ensaio contendo meio de transporte. Utilizar um suabe para cada amostra.

4. Exames

a) Pesquisa de vírus

b) Pesquisa de bactérias

c) Pesquisa de *Trichomonas foetus*

5. Meio

a) Submergir o suabe em 2 mL de Eagle 2 vezes concentrado, com antibiótico

b) Submergir o suabe em 2 mL de: Tioglicolato de sódio ou BHI (*Campylobacter* spp), A3xB (*Mycoplasma* spp) e Cary Blair (outras bactérias)

c) Submergir o suabe em 10 mL de Lactopep para 10 mL de solução salina 0,85%



NOTA

- ✓ O período ideal para colheita de muco vaginal é nos dias subsequentes ao estro (evitar colheita logo após a cópula).
- ✓ O uso de espêculo é fundamental para obtenção de amostra de muco cervicovaginal de boa qualidade.



6. Recipiente

Tubo de ensaio esterilizado contendo meio apropriado

7. Temperatura da amostra para transporte

a e b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

c) Ambiente

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

a e b) Até 48 horas

c) Até 6 dias

1. Material

Urina



2. Onde colher

A amostra de urina pode ser obtida da micção espontânea, de micção induzida, por punção vesical ou mediante cateterismo uretral em fêmeas.

3. Como colher

Antes da colheita, higienizar a região da vulva ou prepúcio com água e sabão, enxaguar e secar com papel toalha.

Colher o jato intermediário da urina com coletor universal estéril.

Há vários procedimentos para induzir a micção:

- A obstrução dos olhos e boca em pequenos ruminantes, durante uns segundos, tanto em fêmeas como em machos, estimula a eliminação de urina.
- Indução da micção em touros por massagem suave e rítmica no óstio prepucial e, em vacas, massagem na vulva. Alertamos que esses métodos só funcionam quando a bexiga está cheia.
- Uso de furosemida (diurético) por via intravenosa favorece a micção dentro de 10 a 15 minutos, porém não deve ser utilizado em animais suspeitos de urolitíase

4. Exames

- a) Pesquisa para *Leptospira* spp. | b) Pesquisa para *Brucella* spp. | c) Técnicas de biologia molecular

5. Meio e quantidade

a) Meio de Fletcher. Colocar 1 mL de urina em 9 mL de solução salina tamponada, pH 7,2 e inocular 2 mL dessa diluição em tubo contendo meio de Fletcher.

b) BHI. Colocar 1 mL da urina em 3 mL em tubo contendo meio de transporte (BHI).

c) Nenhum. Enviar o restante de urina, cerca de 20 mL.

6. Recipiente

a e b) Tubo de ensaio contendo meio apropriado

c) Coletor universal estéril



NOTA
Os meios específicos são fornecidos pelo laboratório.



7. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

1. Material

Sangue

2. Onde colher

- a) Veia jugular;
- b) Veia coccígea;
- c) Veia mamária; e
- d) em suínos, veia cava cranial

3. Como colher

Utilizar sistema a vácuo ou seringa e agulha



4. Recipiente e quantidade

a) Tubo de ensaio sem anticoagulante: capacidade 10 mL.



b) Tubo de ensaio com EDTA K2: capacidade 5 mL



a) Obtenção de soro

Colher o sangue em **tubo sem anticoagulante**; manter o tubo inclinado em temperatura ambiente até o sangue coagular e retraindo o coágulo, exsudando o soro (30 a 60 min). Transferir o soro para outro tubo (tampa com rosca ou tipo "Eppendorf").

Se for utilizado **tubo com gel separador**, será necessário centrifugar o sangue no mínimo 30 minutos após a colheita e no máximo 2 horas e enviar o soro no próprio tubo.



b) Sangue total

O sangue deverá ser colhido e enviado em **tubo com anticoagulante** (EDTA K2). Homogeneizar suavemente, invertendo o tubo (cerca de 6 vezes)



5. Exames

a) Pesquisa de anticorpos

b) Pesquisa direta do agente

6. Temperatura da amostra para transporte

a e b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

Sistemas circulatório e linfático

Doenças do sistema circulatório e linfático produzem sinais clínicos diversos, tais como edema subcutâneo, coloração anormal de mucosas (palidez, cianose, congestão e icterícia), hemorragias (petéquias e sufusões) na pele e nos órgãos internos, edema de órgãos, principalmente do pulmão e do cérebro. Esses sinais são decorrentes da ação de alguns patógenos que lesionam o endotélio e podem causar dificuldade respiratória, cansaço, anorexia, apatia e prostração no animal. O diagnóstico diferencial utiliza fragmentos de órgãos refrigerados e fixados em formol, sangue com anticoagulante e soro sanguíneo.

Principais doenças dos sistemas circulatório e linfático e espécies acometidas

DOENÇAS	ESPÉCIES ACOMETIDAS				
					
Peste Suína Clássica	-	X	-	-	-
Peste Suína Africana	-	X	-	-	-
Circovirose	-	X	-	-	-
Diarréia viral bovina	X	-	-	-	-
Carbúnculo Hemático (Anthrax)	X	X	X	X	X
Hemoglobinúria bacilar	X	-	X	X	-
Leptospirose	X	X	X	X	X
Erisipela	-	X	-	-	-
Doença do Edema	-	X	-	-	-
Babesiose (protozoários sanguíneos)	X	X	X	X	X
Anaplasmosse	X	-	X	X	-
Púrpura hemorrágica	X	X	-	-	X
Anemia infecciosa equina	-	-	-	-	X

Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças dos sistemas circulatório e linfático



Amostras para diagnóstico de doenças dos sistemas circulatório e linfático

1. Material

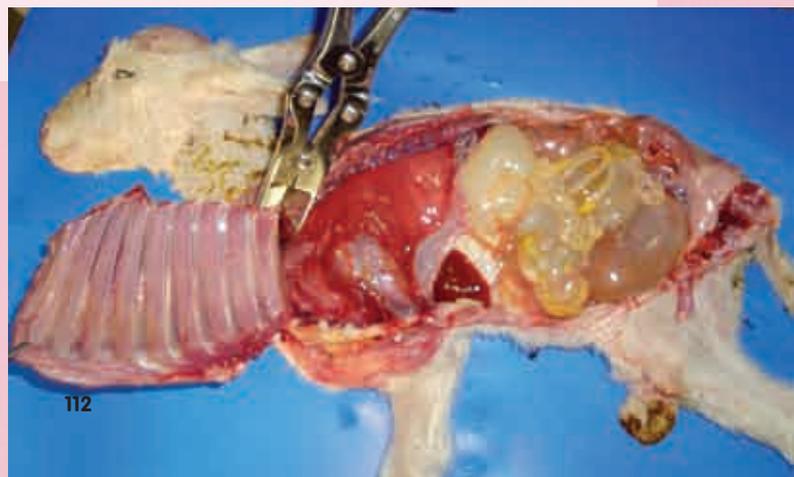
Órgãos - sistema nervoso central, fígado, baço, pulmão, rim, coração, linfonodos e intestino delgado e grosso

2. Como colher

Necropsiar o animal e colher os fragmentos com tesoura ou bisturi e pinça esterilizados, evitando danos ao tecido durante a retirada. Escolher parte do órgão com lesão; se não houver lesão, colher aleatoriamente. Selecionar a porção do intestino delgado com conteúdo, ligar e sectionar. Colher linfonodos regionais.

3. Exames

a Pesquisa direta do agente



b Exame histopatológico



Fragmentos de órgãos que serão remetidos ao laboratório, fixados em formol

Outro hemisfério cerebral

Tronco encefálico

Meia do cerebelo

4. Quantidade

a) Fragmentos de 20 g de cada órgão
a2) 10 a 30 cm de intestino delgado (alça ligada)

b) Fragmentos de 3x1x1cm de cada órgão
b2) 10 cm de órgão tubular (íleo com placas de Peyer)

5. Meio

- a) Nenhum | b) Formol tamponado 10% (volume de formol, pelo menos 10 vezes maior que o volume de tecido a ser fixado)

6. Recipiente

- a) Saco plástico ou coletor universal | b) Frasco; capacidade de acordo com o tamanho do fragmento

ATENÇÃO

Embarcar cada órgão individualmente para pesquisa de agentes



- a) Fragmentos de SNC e outros órgãos, embalados em sacos plásticos esterilizados (refrigerados) | b) Tecidos fixados em formol

7. Temperatura da amostra para transporte

- a) Refrigerada (+2°C a +8°C) | b) Ambiente ou Refrigerada (+2°C a +8°C)

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

- a) Até 48 horas | b) Remeter no mesmo tempo que a amostra refrigerada. Os fragmentos em solução de formol 10%, mesmo não completamente fixados, podem ser enviados ao laboratório

1. Material

Sangue capilar e venoso

2. Onde colher

Preferencialmente sangue periférico a partir da punção de capilares na ponta da orelha



3. Como fazer o esfregaço de sangue

1. Manter a lâmina horizontalmente entre o polegar e o indicador.
2. Colocar uma pequena gota de sangue sem anticoagulante na extremidade da lâmina. (figura a)
3. Colocar uma segunda lâmina (extensora) contra a superfície da lâmina, em frente à gota de sangue, formando um ângulo de 45°.
4. Movimentar a lâmina para trás, de modo que entre em contato com a gota de sangue, pressionando-a até que a gota se espalhe por toda a borda da lâmina. (figura b)
5. Impelir a lâmina, mantendo sempre o mesmo ângulo, num só movimento firme e uniforme, sem separar uma lâmina da outra. Forma-se então uma delgada camada de sangue. (figura c)
6. Secar rapidamente ao ar e identificar com lápis.
7. Fixar por dois minutos em álcool metílico, retirar e secar.
8. Enviar ao laboratório em porta-lâminas.

NOTA

A sensibilidade da técnica pode ser aumentada com a confecção de esfregaços sanguíneos a partir da punção de capilares na ponta da orelha.

Preparação de um esfregaço de sangue a campo, imediatamente após a colheita da amostra.



4. Quantidade

Três lâminas por animal

5. Meio

Nenhum

6. Recipiente

Transportar em caixas ou frascos com paredes rígidas e com ranhuras próprias para a fixação das lâminas

7. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

9. Exames

Pesquisa de hemoparasitas



1. Material

Sangue

2. Onde colher

- a) Veia jugular;
- b) Veia coccígea;
- c) Veia mamária; e
- d) em suínos, veia cava cranial

3. Como colher

Utilizar sistema a vácuo ou seringa e agulha



4. Recipiente e quantidade

a) Tubo de ensaio sem anticoagulante: capacidade 10 mL.



b) Tubo de ensaio com EDTA K2: capacidade 5 mL



a) Obtenção de soro

Colher o sangue em **tubo sem anticoagulante**; manter o tubo inclinado em temperatura ambiente até o sangue coagular e retraindo o coágulo, exsudando o soro (30 a 60 min). Transferir o soro para outro tubo (tampa com rosca ou tipo "Eppendorf").

Se for utilizado **tubo com gel separador**, será necessário centrifugar o sangue no mínimo 30 minutos após a colheita e no máximo 2 horas e enviar o soro no próprio tubo.



b) Sangue total

O sangue deverá ser colhido e enviado em **tubo com anticoagulante** (EDTA K2). Homogeneizar suavemente, invertendo o tubo (cerca de 6 vezes)



5. Exames

a) Pesquisa de anticorpos

b) Pesquisa direta do agente

6. Temperatura da amostra para transporte

a e b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

Sistema osteoarticular

A avaliação de problemas osteoarticulares deve considerar a possibilidade de alterações do encéfalo e do aparelho locomotor, tendo em vista que os sinais clínicos podem ter sua origem em anomalias de um ou de outro sistema. No diagnóstico diferencial, deve-se considerar artrose e artrite séptica, malformações das extremidades, traumatismos no parto ou causados por acidentes. O material clínico de eleição para pesquisa de agentes infecciosos é o líquido sinovial. O soro sanguíneo pode auxiliar no diagnóstico.

Principais doenças do sistema osteoarticular e espécies acometidas					
DOENÇAS	ESPÉCIES ACOMETIDAS				
					
CAE (artrite-encefalite caprina)	-	-	-	X	-
Maedi-Visna	-	-	X	-	-
Brucelose	X	X	X	X	X
Chlamidofilose (<i>Chlamydophila psittaci</i> e <i>pecorum</i>)	-	-	X	X	-
Tuberculose	X	X	X	X	X
Micoplasmose	X	X	X	X	X
Erisipela suína	-	X	-	-	-
Artrites causadas por bactérias piogênicas e enterobactérias	X	X	X	X	X

Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças do sistema osteoarticular



Seringa e agulhas



Agulha para colheita de sangue a vácuo



Sistema para colheita de sangue a vácuo



Tubos a vácuo para colheita de sangue, com gel separador, sem e com anticoagulante



Tubo tipo KMA (tampa com rosca)



Microtubos tipo "Eppendorf"



Suabe estéril



Suabe estéril



Produto para antissepsia

Algodão

Material para tricotomia

Amostra para diagnóstico de doenças do sistema osteoarticular

1. Material

Líquido sinovial

2. Onde colher

Articulações acometidas

- escapulo-umeral, coxofemoral e articulações do carpo e do tarso

3. Como colher

- 1º Sedar o animal;
- 2º Fazer a tricotomia e a desinfecção da região da punção;
- 3º Conter o animal, a fim de evitar movimentos bruscos;
- 4º Puncionar a articulação acometida, utilizando seringas com agulhas de 0,8 mm de diâmetro e 40 mm de comprimento para articulações escapulo-umeral e coxofemoral e com agulhas mais curtas para articulações do carpo e do tarso;
- 5º Posteriormente, dividir a amostra entre um tubo com anticoagulante, para estudo citológico e outro tubo sem anticoagulante, para pesquisa direta de agente;
- 6º Retirar a agulha e aplicar um curativo no local.



Punção da articulação do carpo em ovino acometido de artrite



NOTA

O soro sanguíneo pode auxiliar no diagnóstico de algumas doenças osteoarticulares.

O líquido sinovial normal é incolor e muito viscoso



Líquido sinovial de aspecto sanguinolento em um caso de artrite

NOTA

Se a lesão estiver supurada, colher o exsudato com suabe, utilizando meios específicos para cada situação.

4. Quantidade

Mínimo 1,5 mL

5. Recipiente

Tubo estéril

6. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

8. Exames

Pesquisa direta do agente e citológico

1. Material

Sangue

2. Onde colher

- a) Veia jugular;
- b) Veia coccígea;
- c) Veia mamária; e
- d) em suínos, veia cava cranial

3. Como colher

Utilizar sistema a vácuo ou seringa e agulha



4. Recipiente e quantidade

a) Tubo de ensaio sem anticoagulante: capacidade 10 mL.



b) Tubo de ensaio com EDTA K2: capacidade 5 mL



a) Obtenção de soro

Colher o sangue em **tubo sem anticoagulante**; manter o tubo inclinado em temperatura ambiente até o sangue coagular e retraindo o coágulo, exsudando o soro (30 a 60 min). Transferir o soro para outro tubo (tampa com rosca ou tipo "Eppendorf").

Se for utilizado **tubo com gel separador**, será necessário centrifugar o sangue no mínimo 30 minutos após a colheita e no máximo 2 horas e enviar o soro no próprio tubo.



b) Sangue total

O sangue deverá ser colhido e enviado em **tubo com anticoagulante** (EDTA K2). Homogeneizar suavemente, invertendo o tubo (cerca de 6 vezes)



5. Exames

a) Pesquisa de anticorpos

b) Pesquisa direta do agente

6. Temperatura da amostra para transporte

a e b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

Sistema nervoso central (SNC)

A importância das doenças do sistema nervoso central (SNC) cresceu após o aparecimento da encefalopatia espongiforme bovina (EEB), por se tratar de uma zoonose. Desde então, o conhecimento sobre essas doenças aumentou exponencialmente. A patologia do sistema nervoso é complexa, devido à grande variabilidade anatômica de suas estruturas: encéfalo (cérebro, tronco encefálico e cerebelo) e medula espinhal, que atuam de forma integrada para controlar as funções do organismo. Agentes bacterianos, virais, parasitários e príônicos, tumores, substâncias tóxicas ou traumatismos podem afetar direta ou indiretamente o SNC e produzirem sinais clínicos que permitem identificar disfunção neurológica e, em alguns casos, a localização da lesão.

O envolvimento do SNC é evidenciado por alterações nas funções sensitivas, motoras, reflexas, sensoriais e comportamentais. Para confirmar a causa de doença neurológica é necessária a realização de diagnóstico diferencial. As estruturas do encéfalo e de outros órgãos para pesquisa direta de agentes devem ser colhidas e mantidas sob refrigeração até sua chegada ao laboratório; para exame histopatológico, devem ser fixadas em formol 10%. A pesquisa de anticorpos no soro sanguíneo pode auxiliar no diagnóstico.

Principais doenças do sistema nervoso central e espécies acometidas

DOENÇAS	ESPÉCIES ACOMETIDAS				
					
Raiva	X	X	X	X	X
Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB)	X	-	-	-	-
Scrapie	-	-	X	-	-
Encefalite Herpética Bovina	X	-	-	-	-
Febre Catarral Maligna	X	-	-	-	-
Doença de Aujeszky (Pseudorraiva)	X	X	-	-	-
Listeriose	X	-	X	X	X
Botulismo	X	X	X	X	X
Intoxicações (arsênico, chumbo, organofosforados, carbamatos e plantas tóxicas)	X	X	X	X	X
Encefalite Herpética equina	-	-	-	-	X
Encefalomielite equina do leste, oeste e venezuelana	-	-	-	-	X
Polio-encefalomalácia	X	-	X	X	-
Leucoencefalomalácia equina	-	-	-	-	X

Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças do sistema nervoso central (SNC)



Amostras para diagnóstico de doenças do sistema nervoso central (SNC)

1. Material

SNC inteiro

2. Como colher

1º passo: com faca e auxílio de um gancho, retirar a pele e músculos da calota craniana

2º passo: cortar o osso com machado, serra ou talhadeira e marreta

3º passo: seccionar com tesoura a duramater e retirar o encéfalo cortando os nervos cranianos

4º passo: enviar o encéfalo inteiro com a medula espinhal cervical e o conjunto hipófise, trigêmeos e rede admirável carotídea (capilares ao redor da hipófise)



NOTA

Nunca congelar, pois o laboratório irá dividir as porções para os diferentes exames e, inclusive, fixar uma parte em formol.



3. Meio

Nenhum

4. Recipiente

Saco plástico ou frasco; capacidade de acordo com o tamanho do órgão

5. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)



6. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

7. Exames

Pesquisa direta do agente e exame histopatológico

1. Material

Porções do sistema nervoso central (SNC)

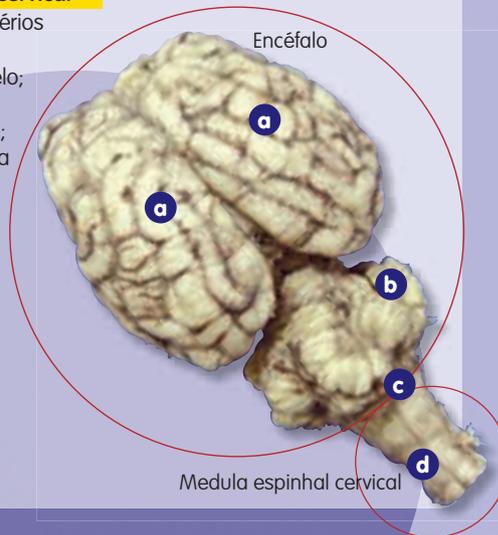
2. Como colher

Dissecar a pele e os músculos da cabeça. Cortar a calota craniana, utilizando serrote, machado ou talhadeira e marreta. Com tesoura e pinça, sectionar a duramater e os nervos cranianos. Retirar o encéfalo e a medula espinhal cervical. Separar as porções para análise laboratorial.

3. Porções anatômicas do SNC

Encéfalo e medula espinhal cervical

- a** - hemisférios cerebrais;
- b** - cerebelo;
- c** - tronco encefálico;
- d** - medula espinhal cervical



4. Passo a passo para separar o SNC

Separando o cerebelo

Sectionar os pedúnculos cerebelares, um por vez, introduzindo uma lâmina cortante, rostral e horizontalmente entre o tronco encefálico e o cerebelo



Separando o tronco encefálico

Sectionar o tronco encefálico do resto do encéfalo, na altura do tálamo, de ambos os lados



5. Exames

a) Porções do SNC para **pesquisa direta do agente**



Separar em:

- 1 - hemisfério cerebral;
- 2 - metade do cerebelo;
- 3 - medula espinhal cervical;
- 4 - tálamo

b) Porções do SNC para **exame histopatológico**



Separar em:

- 1 - hemisfério cerebral; 2 - metade do cerebelo;
- 3 - conjunto de hipófise, rede admirável carotídea e gânglio do nervo trigêmeo;
- 4 - tronco encefálico; 5 - medula espinhal cervical

6. Meio

- | | |
|-----------|--|
| a) Nenhum | b) Formol tamponado 10% (volume de formol, pelo menos 10 vezes maior que o volume de tecido a ser fixado). |
|-----------|--|

7. Recipiente

- | | |
|---------------------------------------|--|
| a) Saco plástico ou coletor universal | b) Frasco de boca larga com tampa de rosca; capacidade de acordo com o tamanho da peça |
|---------------------------------------|--|

8. Temperatura da amostra para transporte

- | | |
|------------------------------|--|
| a) Refrigerada (+2°C a +8°C) | b) Ambiente ou Refrigerada (+2°C a +8°C) |
|------------------------------|--|

9. Tempo crítico para chegada ao laboratório

- | | |
|-----------------|--|
| a) Até 48 horas | b) Remeter no mesmo tempo que a amostra refrigerada. Os fragmentos em solução de formol 10%, mesmo não completamente fixados, podem ser enviados ao laboratório |
|-----------------|--|

1. Material

Outros órgãos -
fígado, baço,
pulmão, rim, coração,
linfonodos, intestino
delgado e grosso

NOTA

✓ Em casos de morte súbita e crepitação muscular, colher também fragmentos de músculo alterado.

2. Como colher

Colher os fragmentos com tesoura ou bisturi e pinça esterilizados, evitando danos ao tecido durante a retirada. Escolher parte do órgão com lesão; se não houver lesão, colher aleatoriamente. Para o intestino delgado, selecionar a porção com conteúdo, ligar e sectionar. Colher linfonodos regionais.

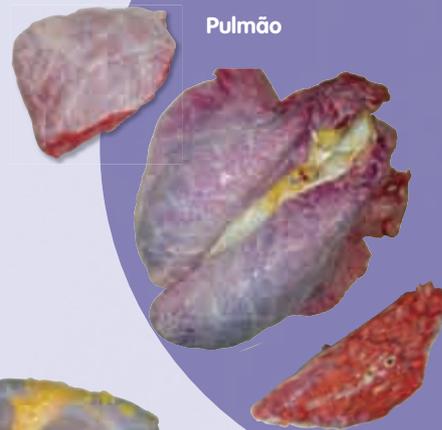
Fígado



Baço



Pulmão



Rim



NOTA

✓ Enviar ao laboratório pelo menos um fragmento de cada órgão refrigerado e um em formol.

Coração





3. Exames

- a) Pesquisa direta do agente | b) Exame histopatológico

4. Quantidade

- a1) Fragmentos de 20 g de cada órgão
a2) 10 cm a 30 cm de intestino delgado (alça ligada).

- b1) Fragmentos de 3x1x1cm de cada órgão
b2) 10 cm de órgão tubular (duodeno, jejuno e porção terminal do íleo)

5. Meio

- a) Nenhum | b) Formol tamponado 10% (volume de formol, pelo menos 10 vezes maior que o volume de tecido a ser fixado).

6. Recipiente

- a) Saco plástico ou coletor universal | b) Frasco; capacidade de acordo com o tamanho do fragmento.

NOTA

Embarcar cada órgão individualmente para pesquisa de agentes



Fragmentos de SNC e outros órgãos



Tecidos fixados em formol

7. Temperatura da amostra para transporte

- a) Refrigerada (+2°C a +8°C) | b) Ambiente ou Refrigerada (+2°C a +8°C)

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

- a) Até 48 horas | b) Remeter no mesmo tempo que a amostra refrigerada. **Os fragmentos em solução de formol 10%, mesmo não completamente fixados, podem ser enviados ao laboratório**

1. Material

Sangue

2. Onde colher

- a) Veia jugular;
- b) Veia coccígea;
- c) Veia mamária; e
- d) em suínos, veia cava cranial

3. Como colher

Utilizar sistema a vácuo ou seringa e agulha



4. Recipiente e quantidade

a) Tubo de ensaio sem anticoagulante: capacidade 10 mL.



b) Tubo de ensaio com EDTA K2: capacidade 5 mL



a) Obtenção de soro

Colher o sangue em **tubo sem anticoagulante**; manter o tubo inclinado em temperatura ambiente até o sangue coagular e retraindo o coágulo, exsudando o soro (30 a 60 min). Transferir o soro para outro tubo (tampa com rosca ou tipo "Eppendorf").

Se for utilizado **tubo com gel separador**, será necessário centrifugar o sangue no mínimo 30 minutos após a colheita e no máximo 2 horas e enviar o soro no próprio tubo.



b) Sangue total

O sangue deverá ser colhido e enviado em **tubo com anticoagulante** (EDTA K2). Homogeneizar suavemente, invertendo o tubo (cerca de 6 vezes)



5. Exames

a) Pesquisa de anticorpos

b) Pesquisa direta do agente

6. Temperatura da amostra para transporte

a e b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

AVES

Autores

Antonio Guilherme Machado de Castro

Renato Luís Luciano

Ana Maria Iba Kanashiro

Ana Lúcia S. P. Cardoso

Eliana Neire Castiglioni Tessari

Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica
do Agronegócio Avícola (CAPTAA)
Instituto Biológico, Descalvado, SP (APTA/SAA-SP)

Principais doenças que acometem as aves

A avicultura industrial caracteriza-se por possuir um sistema de criação intensivo, com as aves alojadas em galpões, para se obter o máximo de produtividade. Essa particularidade torna necessária a adoção de medidas de biossegurança, visando a obter elevados índices de produção, além da prevenção das doenças. Por essa razão é imprescindível o diagnóstico e o monitoramento frequente do status sanitário dos plantéis avícolas.



As principais doenças que acometem as aves são:

Salmonelose
Micoplasmose
Influenza Aviária
Doença de Newcastle
Bronquite Infeciosa
Laringotraqueíte
Doença de Gumboro
Anemia Infeciosa
Colibacilose
Coccidiose
Clostridiose

A maioria delas não ocorre isoladamente, havendo uma interação entre diversos patógenos, com a possibilidade de ocorrerem associações simultâneas entre várias doenças, dentro de um mesmo lote, acarretando elevadas perdas econômicas.

IMPORTANTE

Em casos de suspeita de **Doença de Newcastle** e **Influenza Aviária** de alta patogenicidade, o Serviço Veterinário Oficial no estado deverá ser imediatamente notificado, sendo somente competência do mesmo a colheita das amostras

Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças das aves



Amostras para diagnóstico de doenças das aves

1. Material

Sangue
(para obtenção de soro)

2. Onde colher

Aves adultas:
punção cardíaca ou veia ulnar (asa)

Aves de 1 dia:
punção cardíaca ou veia jugular (decapitação)



3. Como colher sangue para obtenção do soro

AVES ADULTAS

Veia ulnar (asa): Colocar a ave em decúbito lateral, para que a colheita seja feita na veia ulnar (veia da asa). Colher o sangue usando seringa descartável de 5 mL através da punção venosa; transferir para frascos de vidro ou tubo de ensaio de 10 mL, limpos e secos, sem anticoagulante.

AVES DE 1 DIA

Decapitação: Após a insensibilização do animal, com o auxílio de tesoura, proceder à técnica de secção da primeira vértebra cervical (decapitação). Colher o sangue em frasco de vidro ou tubo de ensaio (10 mL), limpo e seco, sem anticoagulante.

AVES ADULTAS E AVES DE 1 DIA

Punção cardíaca: Realizar a contenção da ave com a imobilização das pernas e asas com uma das mãos e puncionar no meio da "região da quilha" (base do esterno), onde há um "vazio", tendo o cuidado para não atingir o pulmão. Inserir a seringa com agulha no peito da ave de maneira perpendicular ao ponto de entrada e paralelo à coluna vertebral, até atingir o coração. Puxar lentamente o êmbolo até obter a quantidade desejada. Transferir para frascos de vidro ou tubo de ensaio de 10 mL, limpos e secos, sem anticoagulante.

Após colheita do sangue da ave através de punção cardíaca, venosa ou outros métodos de prática; manter o frasco ou tubo inclinado a temperatura ambiente para que o sangue coagule e libere o soro; transferir a amostra de soro para microtubo tipo "Eppendorf" ou outro frasco de vidro.

4. Quantidade

Sangue para obtenção do soro:
4,0 mL por ave
Soro: 1 mL por ave

5. Recipiente

Tubo de ensaio ou frasco de vidro (para sangue); e microtubo tipo "Eppendorf" (para sangue ou soro)

NÚMERO DE AMOSTRAS

ELISA: média 25 soros/ lote
Soroaglutinação Rápida (SAR):
100 soros/ lote para *Mycoplasma synoviae* (MS) e *Salmonella pullorum* (SP) e 150 ou 300 soros/ lote para *Mycoplasma gallisepticum* (MG). Consultar a legislação vigente em caso de monitoria oficial

NOTA

Para se obter um soro sem hemólise, ao transferir o sangue da seringa para o tubo, deve-se fazê-lo cuidadosamente, deixando que o sangue escorra pela parede lateral do tubo. Nunca esgotar o sangue de forma brusca e nem no fundo do tubo. Evitar mexer os frascos ou tubos enquanto o sangue está em descanso para separar o soro.



6. Exames

Sorológico para pesquisa de anticorpos

a) Soroaglutinação rápida (SAR)

b) Teste de inibição da hemaglutinação (HI), ELISA, Soroneutralização, Soroaglutinação lenta e Imunodifusão em Gel de Ágar

7. Temperatura da amostra para transporte

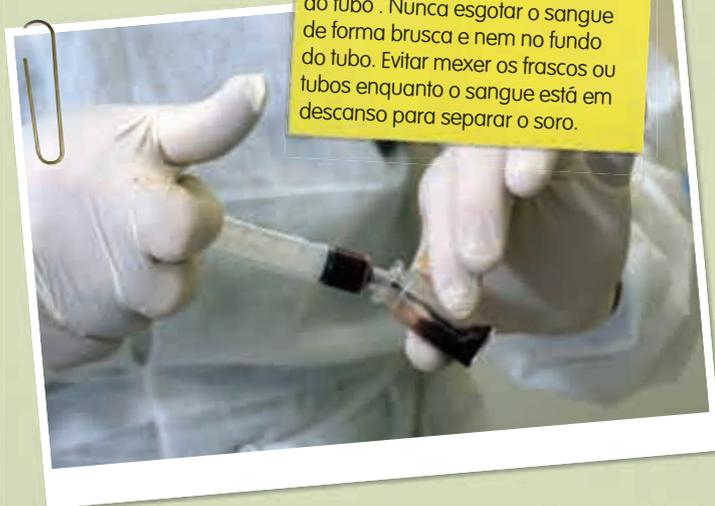
a) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C).

b1) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C); ou b2) Congelada (- 20°C)

Nunca congelar

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

a) Até 24 horas | b1) Até 24 horas; ou b2) Até 48 horas



1. Material

Órgãos

2. O que colher

Traquéia, pulmão, orofaringe, coração, fígado, baço, rim, bursa, cérebro, cerebelo, nervo ciático, proventrículo, moela, pâncreas, tonsilas cecais, duodeno e ceco.

3. Como colher

Utilizar luvas. Com o auxílio de uma tesoura de destrinchar aves, realizar a abertura da cavidade abdominal e torácica, em ave recém sacrificada; Colher cuidadosamente órgãos ou fragmentos de eleição, utilizando-se de tesouras e pinças esterilizadas; Cortar fragmentos com espessura máxima de 2,0 cm, dos tecidos com alterações;

Evitar encostar as mãos nos órgãos, mesmo com luvas, para evitar a contaminação.

Agrupar os órgãos em 4 conjuntos e colocá-los em recipientes separados, sendo:

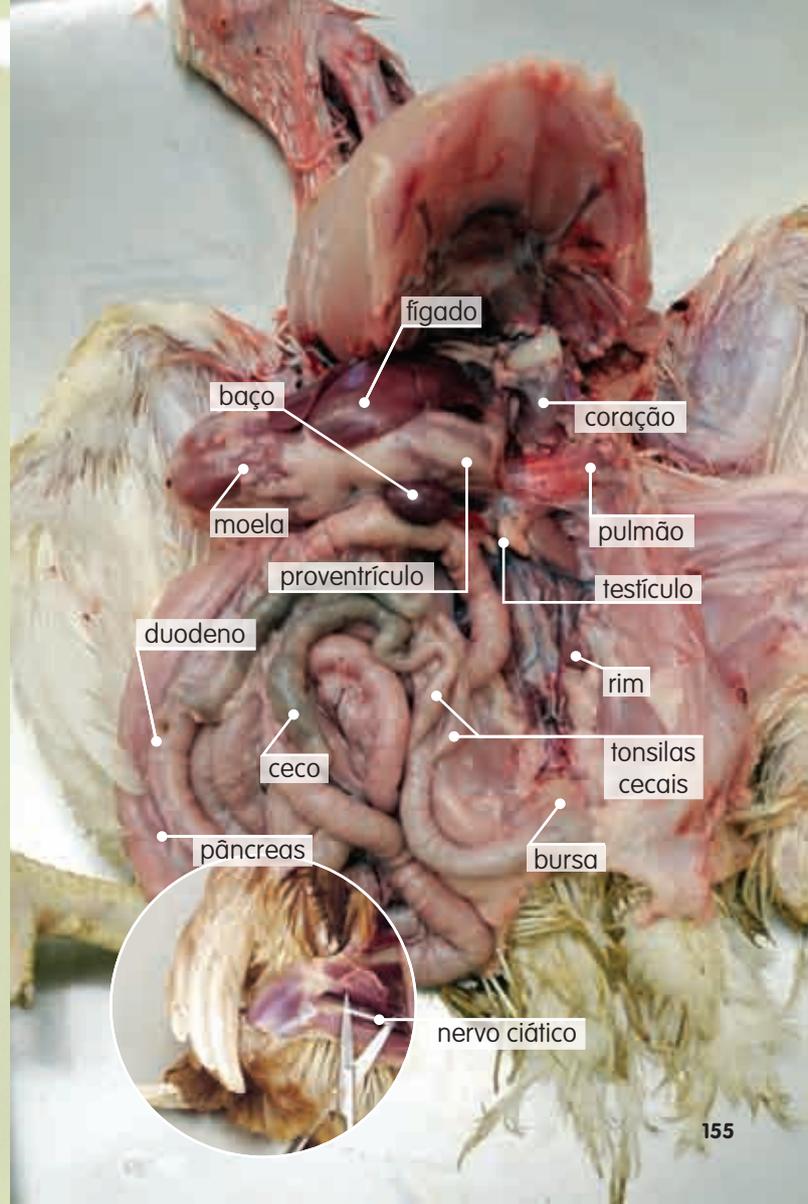
1. Traquéia, pulmão e orofaringe;
2. Coração, fígado, baço e rins;
3. Cérebro, cerebelo e nervo ciático; e
4. Proventrículo, moela, bursa, duodeno, pâncreas, tonsilas cecais e ceco.

Para o histopatológico, colher fragmentos de todos os órgãos acima descritos em um único frasco com formol a 10%.

Incluir o nervo ciático.

NOTA

1. Traquéia deve ser mantida íntegra.
2. Em aves adultas (maturidade sexual), a bursa sofre uma atrofia fisiológica, sendo mais evidente em aves jovens.



4. Quantidade

Órgãos de no mínimo 5 aves/lote, sendo 3 aves com sintomas e 2 aves aparentemente saudáveis

5. Exames

- a) Bacteriológico
- b) Isolamento viral e biologia molecular
- c) Histopatológico

6. Meio

- a) Nenhum
- b) MEM (Meio Essencial Mínimo) com 10% de soro bovino (ou 10% de soro fetal bovino) com solução de antibióticos (0,5X); BHI com solução de antibióticos (0,5X); Caldo Triptose Fosfato Tamponado (TPB) com solução de antibióticos (0,5X)
- c) Solução de formol 10% (100 mL de formaldeído a 37% e 900 mL de água v/v)

NOTA

O volume ideal de formol para cada recipiente é cerca de 10 vezes o volume do material.



Somente para médicos veterinários do Serviço Oficial

Para o diagnóstico da doença de Newcastle e Influenza Aviária, os órgãos devem ser colhidos separadamente, sendo cada órgão de cada ave acondicionado em um único recipiente.

7. Recipiente

a e b) Frasco coletor ou tubos tipo Falcon, agrupados segundo descrito no item 3.

8. Temperatura da amostra para transporte

- a e b) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C);
- c) Ambiente. **Nunca congelar**

9. Tempo crítico para chegada ao laboratório

- a) Até 24 horas;
- b) Até 48 horas;
- c) Remeter no mesmo tempo que as demais amostras. **As amostras em solução de formol 10%, mesmo não completamente fixadas, podem ser enviadas ao laboratório**



1. Material

Suabe de traquéia

2. Como colher

Abrir o bico da ave, abaixar a língua, introduzir o suabe esterilizado na traquéia e esfregar em toda a circunferência, evitando tocar o suabe nas mucosas da boca, para evitar contaminação; Passar um suabe por ave e, em seguida, cortar a extremidade do suabe que estava em contato com a mão e mergulhar o restante no frasco que contém o meio de transporte.

Atenção: no momento da colheita, sempre usar luvas descartáveis e abrir a embalagem com o suabe pelo lado que está o cabo, evitando tocar no algodão.

NOTA

Ao passar o suabe na traquéia, deve-se tomar o cuidado de verificar se ele está sendo introduzido no local correto. Muitas vezes, pode-se confundir a traquéia com o esôfago. A traquéia localiza-se na porção VENTRAL. Uma dica é tracionar um pouco a língua da ave, de modo que a traquéia seja projetada em direção à cavidade bucal, podendo então ser visualizada.



3. Exames

- a) Isolamento viral
- b) Isolamento bacteriológico ou técnica de biologia molecular para *Micoplasma*

4. Quantidade

- a) Suabes de 30 aves/lote, agrupando 10 suabes em cada recipiente
- b) Suabes de 20 aves/lote, agrupados em um recipiente

5. Meio

- a) Solução salina adicionada de antimicrobianos específicos
- b) Caldo Frey

6. Recipiente

- a e b) Bolsa de amostra ou frasco com tampa rosca

7. Temperatura da amostra para transporte

- a) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C)
- b1) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C); ou
- b2) Congelada (- 20°C)

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

- a) Até 24 horas
- b1) Até 24 horas; ou
- b2) se demorar mais de 24 horas



1. Material

Suabe de cloaca



2. Como colher

Colher amostra com suabe estéril, realizando movimentos circulares no orifício da cloaca. Passar o suabe na ave; em seguida, cortar a extremidade do suabe que estava em contato com a mão e mergulhar o restante no frasco que contém o meio para transporte.

Atenção: no momento da colheita, sempre usar luvas descartáveis e abrir a embalagem do suabe pelo lado onde fica o cabo, evitando tocar no algodão.



3. Exames

- a) Bacteriológico para salmonela
- b) Isolamento viral, técnica de biologia molecular

4. Quantidade

- a) 50 suabes, sendo um suabe para cada 2 aves, total de 100 aves por núcleo. Todos os suabes agrupados em um mesmo recipiente
- b) 30 suabes, sendo um suabe por ave, total de 30 aves por núcleo. Agrupar cada 10 suabes em um mesmo recipiente (3 recipientes/núcleo)

NOTA
Consultar a legislação vigente em caso de monitoria oficial

5. Meio

- a) Água peptonada tamponada esterilizada
- b) Solução salina adicionada de antimicrobianos específicos

6. Recipiente

Bolsa de amostra ou frasco esterilizado



7. Temperatura da amostra para transporte

- a) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C)
- b1) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C); ou
- b2) Congelada (- 20°C)

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

- a) Até 24 horas
- b1) Até 24 horas; ou
- b2) se demorar mais de 24 horas

1. Material

Suabe de arrasto

- a) gaze ou esponja esterilizada
- b) propé esterilizado

2. Onde colher

Galpão

3. Como colher

a) Usando luvas descartáveis, abrir a embalagem do suabe de arrasto dentro do galpão a ser amostrado. Segurar o suabe pelo cordão e caminhar pelo galpão, arrastando-o sobre a cama, principalmente entre comedouros e bebedouros. Colocar o suabe dentro do recipiente com o meio para transporte, cortando fora o cordão.

b) Calçar o propé esterilizado sobre a bota e caminhar pelo galpão, principalmente entre comedouros e bebedouros. Retirar o propé utilizando luvas descartáveis e colocar dentro do recipiente com o meio para conservação.



Gaze ou esponja esterilizada

Propé esterilizado



4. Quantidade

2 suabes por galpão do núcleo

NOTA

Caso o laboratório forneça um palito estéril, utilizá-lo para colocar o suabe dentro do recipiente.

5. Meio

Água peptonada tamponada esterilizada



6. Recipiente

Bolsa de amostra ou frasco esterilizado

7. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)



8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 24 horas

9. Exame

Bacteriológico para Salmonela

1. Material

Fundo de caixa



2. Onde colher

Caixa de transporte de aves de 1 dia

3. Como colher

a) Suabe: usando luvas descartáveis, esfregar gaze esterilizada por toda a superfície interna da caixa, preferencialmente sobre fezes, e colocá-la depois em recipiente adequado.

b) Fundo da caixa: usando luvas descartáveis, dobrar o fundo das caixas, de modo que o lado sujo com fezes fique para dentro, e colocá-lo depois em recipiente adequado.



4. Quantidade

a) 1 suabe/2 caixas. Mínimo de 4 caixas analisadas/lote, agrupando todos os suabes do lote num mesmo recipiente

b) Fundos de no mínimo 4 caixas, agrupados por lote em um mesmo recipiente

NOTA

Consultar a legislação vigente em caso de monitoria oficial

5. Meio

a) Água peptonada tamponada esterilizada

b) Nenhum

6. Recipiente



a) Bolsa de amostra ou frasco esterilizado

b) Sacos plásticos resistentes



7. Temperatura da amostra para transporte

a) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C)

b) Ambiente

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

a e b) Até 24 horas

9. Exames

Bacteriológico e Micológico

1. Material

Papel ou cepilho –
que forra a caixa de
transporte de aves de 1 dia

2. Onde colher

Caixa de transporte de aves de 1 dia

3. Como colher

Usando luvas descartáveis, transferir
o material que forra a caixa para
sacos plásticos resistentes

4. Quantidade

Forro de caixa de transporte
de no mínimo 4 caixas,
agrupados por lote em um
mesmo recipiente

NOTA

Consultar a legislação vigente
em caso de monitoria oficial



5. Meio

Nenhum

6. Recipiente

Sacos plásticos resistentes



7. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 24 horas

9. Exames

Bacteriológico e Micológico

1. Material

Fezes frescas

2. Onde colher

No Galpão

3. Como colher

Usando luvas descartáveis e com auxílio de espátula esterilizada, recolher as amostras de fezes frescas de vários pontos do galpão, colocá-las em uma mesma embalagem por lote



4. Exames

- a) Bacteriológico
- b) Isolamento viral, técnica de biologia molecular

5. Quantidade

- a) 1 "pool" de 100 amostras/núcleo,
- b) 50 a 100g/lote colocadas num mesmo recipiente

NOTA

Consultar a legislação vigente em caso de monitoria oficial

6. Meio

- a) Nenhum
- b) Solução salina adicionada de antimicrobianos específicos

7. Recipiente

- a) Sacos plásticos resistentes
- b) Bolsa de amostra ou frasco esterilizado

8. Temperatura da amostra para transporte

a e b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

9. Tempo crítico para chegada ao laboratório

a e b) Até 24 horas

1. Material

Mecônio

2. Onde colher

No incubatório

3. Como colher

Usando luvas descartáveis, colher o mecônio diretamente em recipiente apropriado depois de a ave excretá-lo sob leve pressão



4. Quantidade

50 mL/núcleo de reprodutoras não vacinadas contra *Salmonella enteritidis*

Mecônio de 200 pintos/ núcleo de reprodutoras vacinadas contra *Salmonella enteritidis*, apenas no primeiro nascimento

NOTA

Consultar a legislação vigente em caso de monitoria oficial

5. Meio

Nenhum

6. Recipiente

Bolsa de amostra ou frasco esterilizado

7. Temperatura da amostra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Aiê 24 horas

9. Exame

Bacteriológico para *Salmonella*



1. Material

Ovos bicados

2. Onde colher

No incubatório

3. Como colher

Usando luvas descartáveis, retirar do nascedouro ovos bicados não nascidos



4. Quantidade

20 ovos/núcleo de reprodutoras não vacinadas contra *Salmonella enteritidis*

150 ovos do primeiro nascimento/núcleo de reprodutoras vacinadas contra *Salmonella enteritidis*

5. Meio

Nenhum

6. Recipiente

Embalagens plásticas resistentes



7. Temperatura da amostra para transporte

a1) Refrigerada (+2°C a +8°C); ou a2) Congelada (-20°C)

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

a1) Até 24 horas; ou a2) Acima de 24 horas, até a entrega no laboratório

9. Exames

Bacteriológico



ABELHAS

Apis mellifera

Autores

Érica Weinstein Teixeira
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
(APTA, SAA-SP)

Dejair Message
Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças que afetam *Abelhas Apis mellifera*

Kit EPI – Equipamento de proteção individual



Fumigador

IMPORTANTE
 "Sempre utilizar formão, facas e pinças devidamente desinfetados, entre colmeias e entre apiários" (lavar com água e sabão, realizar esfregação mecânica e depois submergir em álcool 70%)



Formão



Faca



Caneta do tipo marcador permanente



Saco plástico



Caixa isotérmica com gelo reciclável



Lápiz e caneta esferográfica



Pinça



Jornal



Luvas de látex



Pincel/ trincha



Tubos tipo "Eppendorf"



Etiquetas



Envelope



Papel



Espuma



Pote plástico universal



Pote plástico universal perfurado



Pote plástico de 500 mL

Garantindo a segurança

Antes de dirigir-se ao apiário, o profissional deverá vestir-se adequadamente com o equipamento de proteção individual (EPI), acender o fumigador e pegar o formão

TRABALHAR EM DUPLA

O trabalho de colheita deverá ser executado sempre em dupla, um indivíduo controlando as abelhas com fumigador e outro colhendo as amostras



O fumigador é imprescindível, pois a fumaça, na quantidade certa, permite controlar a defensividade das abelhas.

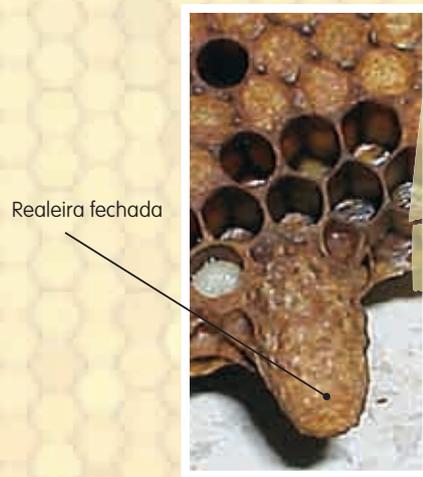
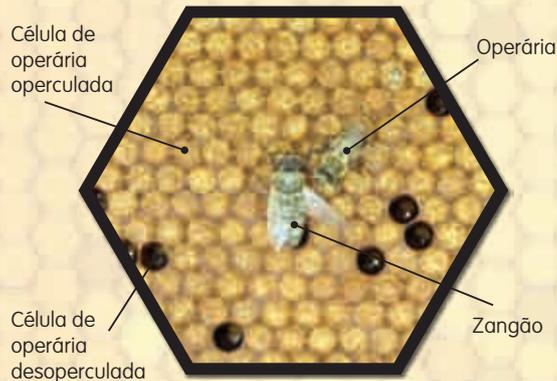


Reconhecendo as partes de uma colmeia



Colmeia Langstroth ou padrão, despovoada, em cavelete de madeira

Identificando os indivíduos da colônia, células de operárias, células de zangão e realeira



Abrindo e inspecionando uma colmeia

1º Passo

Abrindo a colmeia e controlando o comportamento defensivo das abelhas

- ✓ Fazer fumaça no alvado;
- ✓ Levantar a tampa;
- ✓ Fazer fumaça paralela à superfície dos quadros;
- ✓ Fechar a colmeia por 1 minuto;

Manter o fumigador cerca de 15 cm da colmeia



- ✓ Abrir a tampa novamente e fazer fumaça paralela à superfície dos quadros;



Certificar-se de que a rainha não está na tampa



- ✓ Apoiar a tampa no chão com a parte interna para cima, colocando sobre ela a(s) melgueira(s) ou qualquer outro aparato utilizado pelo apicultor (Ex.: Alimentador de topo, coletor de pólen, coletor de própolis, tela excludora etc.).

2º Passo - Inspeccionando a área de cria;

NOTA

Localização mais provável da área de cria.

Ninho



- ✓ Com o auxílio do formão, descolar os quadros do ninho (devido à propolização);
- ✓ retirar um quadro da área de cria.

- ✓ Realizar a inspeção dos quadros da área de cria.
Certificar-se de que a rainha não está presente nesse quadro e, caso esteja, transferi-la cuidadosamente para outro quadro ou permitir que ela o faça espontaneamente.



Para facilitar a visualização das crias, se necessário, chacoalhar o quadro suavemente para dentro da colmeia ou utilizar um pequeno ramo de planta para afastar as abelhas adultas que estão cobrindo a área de cria.

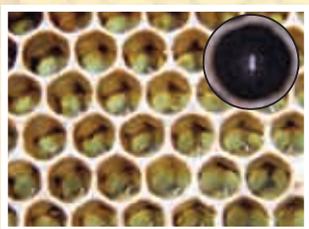
Fases do desenvolvimento das abelhas

Durante seu ciclo de vida, as abelhas passam por quatro diferentes fases: ovo, larva, pupa e inseto adulto

DIFERENTES FASES DO DESENVOLVIMENTO DAS ABELHAS – CRIAS NORMAIS

Ovo

No primeiro dia, encontra-se na posição vertical, no segundo dia inclinada e, no terceiro dia, passa a ficar na posição horizontal



H. Altobelli, PROTA-VP/APTA, SAA, SP

Larva

Fase larval

Pré-pupa



Diferentes sub-estágios do desenvolvimento larval, incluindo pré-pupa

M. Elias-Nêto, FCCB/USP

Diferentes estágios da fase larval. Crias desoperculadas e operculadas



Pupa

Fase de pupa



M. Elias-Nêto, FCCB/USP

Diferentes estágios da fase de pupa (pupa de olho branco, pupa de olho rosa, pupa de olho rosa-escuro e pupa de olho marrom com pigmentação torácica de leve a forte).

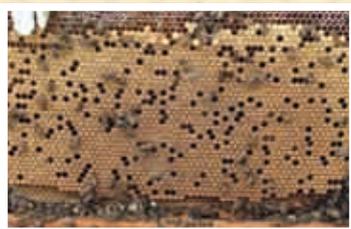


Pré-pupa e pupa em diferentes estágios, desoperculadas, para permitir a visualização.

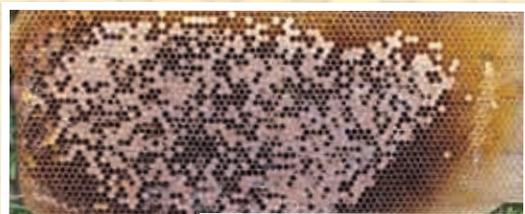
Crias saudáveis normalmente são vigorosas e apresentam-se na fase larval no fundo dos alvéolos, em forma de "C" (desoperculadas). Após 5 a 6 dias, essas larvas são operculadas com cera, mudando constantemente a sua posição até ficarem retas nos alvéolos, com o dorso do corpo na parede lateral do alvéolo (pré-pupa). Nessa fase, ela cessa seus movimentos e passa por modificações, transformando-se em pupa. Desde ovo, passando por todos os estágios de larva, até o estágio inicial de pupa, a cria apresenta-se com coloração branco-pérola em todo o corpo. Ao longo da fase de pupa, ocorrem mudanças gradativas na pigmentação dos olhos e dos segmentos do corpo.

Diferentes anomalias na fase de cria

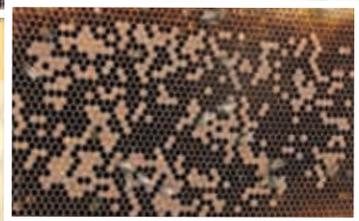
Para reconhecer os sintomas das doenças é importante estar familiarizado com as características das diferentes fases do desenvolvimento das crias e com a aparência de um favo com crias saudáveis.



Quadro com área de cria normal

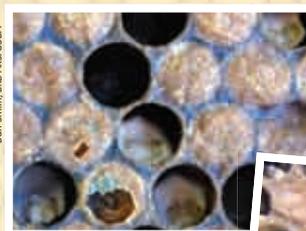


Quadro com área de cria falhada



Exemplos de possíveis alterações na aparência das crias

Bart Smith, BR/ASCUSA



Cria mumificada

Cria com alteração de cor e/ou ressecada



Cria contorcida na parede do alvéolo com alteração de cor e murcha



Cria no fundo da célula com alteração de cor e murcha



Cria com alterações de consistência (aquosa)

Principais doenças, intoxicações
e parasitoses que afetam
CRIAS DE ABELHAS - *Apis mellifera*

**Cria Pútrida Americana
ou Loque Americana**

Agente causador

Bactéria *Paenibacillus larvae*

Fase de desenvolvimento da cria afetada

Pré-pupa e pupa



VERONICA WILLIAMS / BR/AS/US/DA

VERONICA WILLIAMS / BR/AS/US/DA

Cria Pútrida Européia ou Loque Européia

Agente causador

Bactéria *Melissococcus plutonius*

Fase de desenvolvimento da cria afetada

Geralmente larva desoperculada em fase de
alimentação; algumas vezes cria operculada



Cria Giz

Agente causador

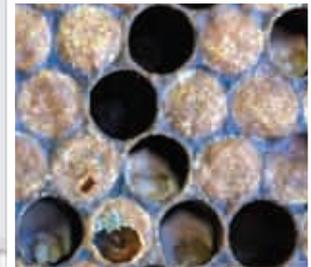
Fungo *Ascosphaera apis*

Fase de desenvolvimento da cria afetada

Crias já operculadas, pré-pupa e pupa
(ficam mumificadas)



BART SMITH / BR/AS/US/DA



BART SMITH / BR/AS/US/DA

Cria Ensacada

Agente causador

Vírus SBV (*Sac Brood Virus*)

**Fase de desenvolvimento
da cria afetada**

Pré-pupa (não consegue
passar para pupa)



Cria Ensacada Brasileira

Agente causador

Pólen da planta barbatimão (*Stryphnodendron* spp)

Fase de desenvolvimento da cria afetada

Pré-pupa (não consegue passar para pupa)



Crias Anômalas

Agente causador

Causa indeterminada

Fase de desenvolvimento da cria afetada

Pupa



Cria com asa deformada

Agente causador

Vírus DWV (*Deformed Wing Virus*), ou, eventualmente, *Varroa* (por ação física)

Fase de desenvolvimento da cria afetada

Pupa, próximo à emergência ou nascimento (quando o sintoma é evidente)



Varroatose

Agente causador

Ácaro ectoparasita *Varroa destructor* (na fase de reprodução)

Fase de desenvolvimento da cria afetada

Cria já operculada



Amostras para diagnóstico das principais doenças que afetam **CRIAS DE ABELHAS - *Apis mellifera***

Antes de iniciar a colheita de amostra, faça uma observação minuciosa dos favos na área de cria. Nos quadros que apresentarem falhas (conforme apresentado na página 188), procure detectar a presença de crias com alterações na cor (mudança de branco-pérola para marrom claro a escuro); murchas; contorcidas nas paredes dos alvéolos ou mumificadas.

Colheita de crias para análise

Para diagnóstico da doença, colher **4 amostras diferentes**

Amostra 1

1. Onde colher

No ninho

2. O que colher

Favos falhados e com crias anormais, sem mel

3. Como colher

Com a faca, entre os arames do quadro, cortar pedaços de favo em uma região com crias suspeitas



NOTA

Realizar as colheitas de amostras utilizando luva descartável de látex sobre as de borracha e descartá-la, entre uma e outra colmeia, em saco de lixo, fechando-o em seguida.



4. Quantidade

Pedaços de favo contendo **o máximo possível de crias anormais** – 3 a 5 pedaços de favo de aproximadamente 3x3 cm a 3x10 cm, preferencialmente entre os arames do quadro. Pode também ser o favo inteiro

5. Recipiente

Envolver as amostras de favo em papel jornal ou outro tipo de papel não encerado.
Atenção: Nunca envolver em plástico ou papel alumínio, nem colocar em frasco fechado



6. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

8. Exames

Isolamento/identificação

Análise microscópica e/ou molecular, se o material estiver preservado

Amostra 2

1. Onde colher

No ninho

2. O que colher

Favos contendo crias operculadas (preferencialmente, sem mel e com pupas mais velhas, de olho escuro)

3. Como colher

Com uma faca, cortar um pedaço de favo com crias

4. Quantidade

Pedaço de favo de aproximadamente 3x10 cm (contendo pelo menos 100 crias operculadas)



5. Recipiente

Envolver os pedaços de favo em papel jornal ou outro tipo de papel não encerado. **Atenção:** nunca envolver em plástico ou papel alumínio, nem colocar em frasco fechado



6. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

8. Exames

Avaliação da taxa de infestação de crias por *Varroa destructor* (varroatose)

Amostra 3

1. Onde colher

No ninho



2. O que colher

Crias anormais

3. Como colher

Com uma pinça, colher, individualmente, crias anormais



4. Quantidade

Efetuar colheita individual de aproximadamente 20 crias ou todas, se forem menos de 20

5. Recipiente

Dividir as amostras em 2 partes iguais e colocar em:

- 1) Tubos tipo "Eppendorf" de 1,5 ou 2,0 mL - colocar uma cria suspeita por tubo



- 2) Papel ofício comum - esmagar a amostra ao dobrar o papel (colocar o papel dentro de um envelope)



6. Temperatura da amostra para transporte

- 1) Congelada (-20°C). Congelar imediatamente as amostras, mantendo o material em freezer até o envio para o laboratório

- 2) Ambiente

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

8. Exames

Análise microscópica, microbiológica e/ou molecular

Amostra 4

1. Onde colher

No ninho

2. O que colher

Pedaco de favo contendo mel operculado (na parte superior de favos de cria - caso não encontre, colher mel desoperculado)

3. Como colher

Com uma faca, cortar a parte superior do favo contendo mel (entre o arame e a madeira do quadro)

4. Quantidade

Quatro pedaços de aproximadamente 3X7 cm (a amostra pode conter pólen)



Pólen armazenado

Mel operculado

Detalhe do favo contendo mel operculado e pólen armazenado no alvéolo (também chamado de "pão de abelha")

5. Recipiente

Colocar as amostras em frascos plásticos de 500 g a 1 kg. Fechar bem, colocando em seguida cada frasco em saco plástico

6. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

8. Exames

Análise para esporos de *P. larvae* e presença de pólen de barbatimão

Principais doenças, intoxicações e parasitoses que afetam **ABELHAS ADULTAS - *Apis mellifera***

Nosemose

Agente causador

Microsporídeos, *Nosema apis* e/ou *Nosema ceranae*

Sintomas clínicos

Diarréia, quando causada por *N. apis*;
Sintoma inespecífico, quando causada por *N. ceranae*

Acariose

Agente causador

Âcaros endoparasitas, *Acarapis woodi*,
dentre outras espécies

Sintomas clínicos

Inespecífico

Varroatose

Agente causador

Âcaro ectoparasita, *Varroa destructor*

Constatação visual da presença do ácaro sobre as abelhas



Viroses

Agente causador

Cerca de 18 diferentes vírus podem infectar abelhas, dentre os quais podem ser citados *Black Queen Cell Virus* (BQCV) - *Filamentous Virus* (FV) - *Deformed Wing Virus* (DWW) - *Chronic Bee Paralysis Virus* (CBPV) - *Acute Bee Paralysis Virus* (ABPV) - *Israeli Acute Paralysis Virus* (IAPV) e *Cloud Wing Virus* (CWV)

Sintomas clínicos

Inespecíficos, muito embora, alguns sintomas tenham sido associados a viroses, tais como: abelhas com asas deformadas dentro e na frente da colmeia, abelhas sem pelos e com aspecto brilhoso, abelhas com asas opacas e abelhas com tremores



Yanping Chen, BBVA/IASI, USDA

Intoxicações por agrotóxicos

Agente causador

Constituintes químicos de inseticidas e de outros defensivos agrícolas

Sintomas clínicos

Grande quantidade de abelhas mortas fora e/ou dentro da colmeia



Osman Nobrega, CESP, UNESP

Amostras para diagnóstico das principais doenças que afetam **ABELHAS ADULTAS - *Apis mellifera***

Em abelhas adultas, geralmente, não ocorrem sintomas característicos de cada doença. O que se observa comumente é a presença de algumas abelhas adultas moribundas na entrada da colmeia (alvado) ou no chão, rastejando até morrerem. Quando ocorre mortalidade por algum tipo de inseticida, observa-se maior quantidade de abelhas mortas no chão na frente da colmeia e, algumas vezes, no fundo da colmeia. Eventualmente, certas viroses e parasitas podem produzir sintomas específicos (asas deformadas, ausência de pelos, entre outros)

Colheita de abelhas adultas para análise

Para diagnóstico das doenças e intoxicações de abelhas adultas, colher **5 amostras diferentes**

Amostra 1

1. Onde colher

Na frente da colmeia (no solo) e na entrada da colmeia (alvado)



NOTA

Se possível, um dia antes da colheita, capinar/limpar 2 a 3 metros na frente de cada colmeia, para facilitar a visualização das abelhas que estão moribundas

2. O que colher

Abelhas adultas ainda vivas e moribundas (rastejando e sem conseguir voar)

3. Como colher

Com o auxílio de uma pinça, colher as abelhas moribundas

4. Quantidade

Cerca de 30 abelhas ou mais por colmeia

5. Recipiente

Frascos de plástico tipo universal perfurado na tampa e nas laterais



6. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

8. Exames

Detecção de esporos de *Nosema* spp., ácaros endoparasitas e protozoários

Amostra 2

1. Onde colher

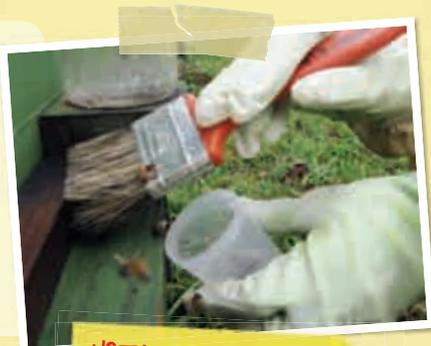
Na entrada da colmeia (alvado)

2. O que colher

Abelhas adultas campeiras que estão chegando

3. Como colher

Fechar a entrada da colmeia (alvado) com uma tira de espuma comum e colher as abelhas que estão chegando dentro de um frasco plástico tipo universal, contendo álcool 70%



NOTA

Para a colheita de abelhas no alvado, pode-se sugá-las, utilizando-se um sugador de abelhas ou, alternativamente, varrê-las com um pincel/trincha comum (de pintura) de 4 a 5 cm de largura



4. Quantidade

Cerca de 30 abelhas ou mais, por colmeia

5. Meio

Álcool 70%. No frasco, deixar 5mm de álcool acima das amostras de abelhas



6. Recipiente

Frasco plástico tipo universal (contendo álcool 70%)
Atenção: fechar bem o frasco, colocando cada frasco em um saco plástico. Em seguida, colocar em caixa de papelão com divisórias entre os frascos

7. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Aiê 72 horas

9. Exames

Deteção de esporos de *Nosema* spp., ácaros endoparasitas e protozoários

Amostra 3

1. Onde colher

Dentro da colmeia

2. O que colher

Abelhas adultas que estão cobrindo a área de cria

3. Como colher

Suspender um favo de cria. Com o auxílio de um frasco de plástico tipo universal, posicionado obliquamente e arrastado de baixo para cima, colher as abelhas dentro do frasco



4. Quantidade

Cerca de 10 abelhas por colmeia

5. Recipiente

Frascos plástico tipo universal



6. Temperatura da amostra para transporte

Congelada (-20°C). Congelar imediatamente as amostras, mantendo o material em freezer até o envio para o laboratório

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 24 horas

8. Exames

Análise molecular

Amostra 4

1. Onde colher

Dentro da colmeia



2. O que colher

Abelhas adultas que estão cobrindo a área de cria

3. Como colher

Susender um favo de cria. Com o auxílio de um frasco de plástico de 500 mL contendo 250 mL de álcool 70%, posicionado obliquamente e arrastado de baixo para cima, colher as abelhas dentro do frasco



4. Quantidade

Cerca de 200 a 300 abelhas por colmeia

5. Meio

Álcool 70%. No frasco, deixar 5mm de álcool acima das amostras de abelhas.



6. Recipiente

Frasco plástico de 500 mL (contendo álcool 70%)

Atenção: fechar bem o frasco, colocando cada frasco em um saco plástico. Em seguida, colocar em caixa de papelão com divisórias entre os frascos

7. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 72 horas

9. Exames

Determinação da taxa de infestação de ácaros ectoparasitas

Amostra 5

1. Onde colher

Na frente e/ou no fundo de cada colmeia

2. O que colher

Abelhas adultas moribundas e/ou mortas

Importante: Colher abelhas mortas somente se a mortalidade tiver ocorrido um dia antes da colheita

3. Como colher

Com o auxílio de uma pinça ou com a própria mão utilizando luvas descartáveis, colher as abelhas moribundas e/ou recentemente mortas



OSMAR MALUSPINA, CES/UNESP



OSMAR MALUSPINA, CES/UNESP

4. Quantidade

Cerca de 300 a 500 abelhas nas proximidades de cada colmeia

5. Recipiente

Frasco plástico com capacidade de 1 kg

6. Temperatura da amostra para transporte

Congelada (-20°C). Congelar imediatamente as amostras, mantendo o material em freezer até o envio para o laboratório

7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 24 horas

8. Exames

Deteção de inseticida e outros defensivos agrícolas

Bibliografia

ANTÓN, J. J. R.; MAYAYO, L. M. F. **La exploración clínica del ganado ovino y su entorno**. Zaragoza: Servet, 2007. 422 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 7.500**: símbolos de risco e manuseio para o transporte e armazenamento de material. Rio de Janeiro, março de 2000.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. 800 p.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 6, de 19 de setembro de 1991. Dispõe sobre a incineração de resíduos sólidos provenientes de estabelecimentos de saúde, portos e aeroportos. **Diário Oficial União**, Brasília, DF, 30 out. 1991. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=1156>> Acesso em: 14 dez. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Controle da raiva dos herbívoros**: manual técnico. Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2005. 104 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 17 de 07 de abril de 2006. Aprova, no âmbito do Programa Nacional de Sanidade Avícola, o Plano Nacional de Prevenção da Influenza Aviária e de Controle e Prevenção da Doença de Newcastle. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 abril 2006, Seção 1, p. 6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 32, de 14 de maio de 2002. Aprova as normas técnicas de vigilância para doença de Newcastle e Influenza Aviária, e de controle e erradicação para a doença de Newcastle. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 14 maio 2002. Seção 1, p. 28.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 44 de 23 de agosto de 2001. Aprova as normas técnicas para o controle e a certificação de núcleos e estabelecimentos avícolas para a Micoplasmose Aviária (*Mycoplasma gallisepticum*, *synoviae* e *melleagridis*). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 ago. 2001, Seção 1, p. 68.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 78, de 03 de novembro de 2003. Aprova as normas técnicas para controle e certificação de núcleos e estabelecimentos avícolas como livres de *Salmonella gallinarum* e de *Salmonella pullorum* e livres ou controlados para *Salmonella enteritidis* e para *Salmonella typhimurium*. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 05 nov. 2003, Seção 1, p. 3. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=11080>>. Acesso em: 14 dez. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano de ação para febre aftosa**: volume I – atendimento à notificação de suspeita de doença vesicular. Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2009. 96 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 48, de 17 de fevereiro de 2006. Submete à consulta pública, por um prazo de 30 (trinta) dias, a partir da data de publicação desta Portaria, o Projeto de Instrução Normativa, que aprova o Plano Nacional de Controle e Prevenção da Doença de Newcastle e de Prevenção da Influenza Aviária. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 21 fev. 2006, Seção 1, p. 6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 108 de 04 de setembro de 1991. Aprova os métodos analíticos para controle de alimentos para uso animal. **Diário Oficial União**, Brasília, DF, 17 set. 1991. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=12750>>. Acesso em: 16 out. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 126, de 03 de novembro de 1995. Normas de credenciamento e monitoramento de laboratórios de diagnóstico das salmoneloses aviárias (*S. enteritidis*, *S. gallinarum*, *S. pullorum* e *S. typhimurium*). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 06 nov. 1995, Seção 1, p. 17694. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=12698>>. Acesso em: 14 dez. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 182 de 08 de novembro de 1994. Aprova as Normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios de Diagnóstico da Doença de Newcastle. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 nov. 1994, Seção 1, p. 17003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Procedimentos para colheita, transporte, recepção e conservação de amostras de soros para diagnóstico sorológico de febre aftosa**. Brasília: MAPA/SDA/DDA, 2004.13 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Procedimentos para o diagnóstico das doenças do sistema nervoso central de bovinos**. Brasília: MAPA/SDA/DDA, 2003. 50 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Programa Nacional de Sanidade Avícola. **Procedimentos operacionais de atividades de campo**: manual técnico. Brasília, DF: MAPA, 2002. 85 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com material biológico**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2004. 60 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRASIL. Ministério dos Transportes. Portaria n° 204, de 20 de maio de 1997. Aprova as instruções complementares aos regulamentos dos transportes rodoviários e ferroviários de produtos perigosos. **Diário Oficial União**, Brasília, DF, 26 maio 1997. Suplemento n° 98.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Control of preanalytical variation in trace element determinations; approved guideline**. Pennsylvania: NCCLS, 1997. (NCCLS document C38-A).

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Tubes and additives for venous blood specimen collection; approved standard**. 5th ed. Pennsylvania: NCCLS, 2003. (NCCLS document H01-A5).

KOERICH, P. K. V.; ZUFFO, J. P.; BACK, A.; PEREIRA, R. A. **Guia de coleta e envio de materiais para diagnóstico laboratorial**. 2. ed. Xanxerê, SC: News Print Gráfica e Editora Ltda, 2007. 165p.

MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Pathologic basis of veterinary disease**. 4th ed. Maryland: Elsevier, 2007. 1488 p.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/ MEDICINA LEGAL; BD DIAGNOSTICS PREANALYTICAL SYSTEMS. **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / ML para coleta de sangue venoso**. São Paulo: SBPC/ML, 2005. 76 p.

UNITED NATIONS. **UN recommendations on the transport of dangerous goods - model regulations**. 13th ed. rev. Disponível em: <http://www.unece.org/trans/danger/publi/unrec/rev13/13files_e.html>. Acesso em: 30 out. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the safe transport of infectious substances and diagnostic specimens**. Genebra: WHO, 1997. (WHO/EMC/97.3). Disponível em: <http://www.who.int/csr/emc97_3.pdf>. Acesso em: 29 maio 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Laboratory biosafety manual**. 2nd rev. Geneva: WHO, 2003. Disponível em: <<http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Labbiosafety.pdf>>. Acesso em: 29 maio 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Laboratory biosafety manual**. 3rd ed. Geneva: WHO, 2004. Disponível em: <www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf>. Acesso em: 29 maio 2009.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**. 5th ed. Paris: OIE, 2004. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00055.htm>. Acesso em: 30 out. 2009.

Ministério da Agricultura, Pecuária e
Abastecimento - MAPA
Departamento de Saúde Animal
Esplanada dos Ministérios – Bloco D, Anexo A,
Sala 301
70043-900 - Brasília, DF - Brasil
Tel.: 00 55 61 3218-2701 • Fax: 00 55 61 3226-3446
<http://www.agricultura.gov.br>
0800 - 7041995

Organização Pan-Americana
da Saúde – OPAS/OMS
Saúde Pública Veterinária
Centro Pan-Americano de Febre Aftosa -
PANAFTOSA
Av. Presidente Kennedy, 7778 – CEP: 25040-004
Duque de Caxias, Rio de Janeiro – Brasil
Tel.: 00 55 21 3661-9003 • Fax: 55 21 3661-9001
<http://www.panaftosa.org.br>

**Secretaria de
Defesa Agropecuária**

**Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**



**Organização
Pan-Americana
da Saúde**

*Escritório Regional para as Américas da
Organização Mundial da Saúde*

**Saúde Pública Veterinária
Centro Pan-Americano de Febre Aftosa**