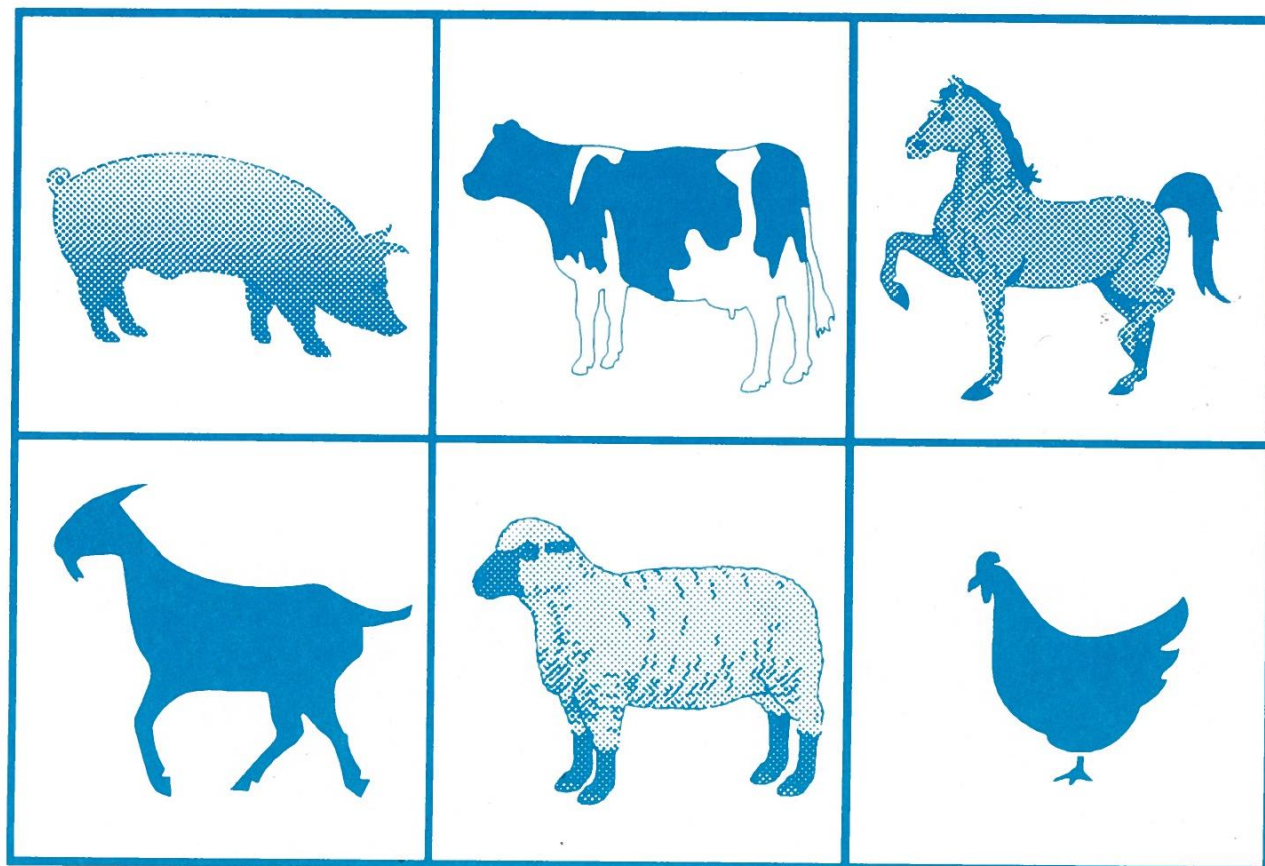


MANUAL DA COLETA E REMESSA DE MATERIAIS PARA DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS EM ANIMAIS



FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PESQUISA AGROPECUÁRIA
SECRETARIA DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA
PORTO ALEGRE - RIO GRANDE DO SUL - BRASIL



GOVERNO DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

SECRETARIA DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-FEPAGRO

ISSN 0104 - 9097

CIRCULAR TÉCNICA, Nº 6

OUTUBRO, 1995

**MANUAL DA COLETA E REMESSA DE MATERIAIS PARA
DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS EM ANIMAIS**

PORTO ALEGRE, RS

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:
FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - FEPAGRO
SETOR DE EDITORAÇÃO
 Rua Gonçalves Dias, 570 - Bairro Menino Deus
 90130-060 PORTO ALEGRE, RS-BRASIL
 Fone: (051) 233-5411 Fax: (051) 233-7607
 Tiragem: 1500 exemplares

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - FEPAGRO

DIVISÃO DIFUSÃO DE TECNOLOGIA: Elnar Antonino Cassol - Coord.
 Publicação editada pelo Setor de Editoração da FEPAGRO

COMISSÃO EDITORIAL: Volnei Antonio Conci - Coordenador
 Mara Denise de Azambuja Severo
 Sandra Maria Borowski

Assessoria da Comissão Editorial

BIBLIOTECÁRIAS: Nêmora Arlindo, Maria Glaci Maia

REVISÃO DE PORTUGUÊS: Gilda Maria Marcelino

JORNALISTA: Hilda Gislaïne Araújo de Freitas

SECRETÁRIA: Vânia Rita Gasparin

CATALOGAÇÃO NA FONTE

636.08:619 FEPAGRO
 Manual da coleta e remessa de materiais para diagnóstico de
 doenças em animais. -- Porto Alegre, 1995.
 15 p. -- (Circular Técnica, 6)

I Título. II Série. 1. Doença animal - Diagnóstico 2. Medicina
 Veterinária - Diagnóstico
 x Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

FEPAGRO. **Manual da coleta e remessa de materiais para
 diagnóstico de doenças em animais.** Porto Alegre, 1995. 15p.
 (Circular Técnica, 6)

SUMÁRIO

	Página
Informações preliminares	5
Problemas de reprodução: abortos, natimortos, fetos mumificados, retornos, descargas vulvares	7
Bacteriologia	8
Clostridioses	8
Enterites	8
Mastite	8
Suabes	8
Visceras	9
Parasitologia	9
Helmintos (Fezes)	9
Ectoparasitas	10
Hemoparasitas	10
Sorologia	11
Ruminantes	11
Suínos	11
Virologia	11
Histopatologia	14
Micologia	14
Dermatomicose	14
Dermatofitose	14
Dermatofilose	14
Rações e Grãos	15
Grãos e Rações à granel	15

MANUAL DA COLETA E REMESSA DE MATERIAIS PARA DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS EM ANIMAIS

INFORMAÇÕES PRELIMINARES

O Centro de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor (CPVDF) da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO) fornece serviços laboratoriais de apoio às atividades de diagnóstico de campo das doenças das espécies animais de interesse econômico. Opera através de um laboratório central, situado no Município de Eldorado do Sul (área da Grande Porto Alegre) e de dois laboratórios regionais (Ijuí e Santana do Livramento).

A gama de exames laboratoriais disponíveis é bastante variada, incluindo testes bacteriológicos, virológicos, sorológicos, histopatológicos, parasitológicos e toxicológicos. Os veterinários dos diferentes laboratórios se encontram à disposição para auxiliar no casos de diagnóstico a campo, através de consultas telefônicas.

No caso de remessa de materiais para esse Centro siga as orientações abaixo:

a) Os materiais deverão ser endereçados para:

**CENTRO DE PESQUISA VETERINÁRIA DESIDÉRIO
FINAMOR - FEPAGRO
PROTOCOLO TÉCNICO**

Rodovia BR 116(Sul) - km 291

92990-000 Eldorado do Sul, RS - BRASIL

Fone: (051) 481-3711 Fax: (051) 481-3337

ou no caso de materiais não perecíveis enviar para:

CENTRO DE PESQUISA VETERINÁRIA DESIDÉRIO
FINAMOR - FEPAGRO
PROTOCOLO TÉCNICO
Caixa Postal 2076
90001-970 Porto Alegre, RS - BRASIL

b) Os materiais do interior do Estado poderão ser enviados por via rodoviária, de segunda a quinta-feira. O CPVDF mantém um serviço diário de coleta na Estação Rodoviária de Porto Alegre. Para evitar atrasos, sugerimos um contato telefônico com o Protocolo Técnico, avisando sobre o material remetido e para obter informações a respeito do custo dos exames laboratoriais - Fone: (051) 481-3711 - Ramal 47. Tomar cuidado com os envios por empresas de ônibus ou transportadoras, pois em alguns casos os materiais são mantidos no depósito das mesmas sem comunicação ao CPVDF. Salientamos que não existe rotina de coleta em outros locais, somente na Estação Rodoviária. Caso sejam usadas empresas de ônibus que não operem na Rodoviária ou transportadoras, deve-se tomar o cuidado de contratar o transporte até o local do laboratório e informar ao transportador sobre a urgência da chegada da encomenda ao destino.

c) Por ocasião da remessa dos materiais, deverá ser providenciado o pagamento dos exames a serem realizados. Número da conta para depósito:

Banco do Estado do Rio Grande do Sul S.A. - BANRISUL
- Agência 050 (Menino Deus).

Conta Corrente nº 03.034337.0-0/ a crédito da FEPAGRO.

Remeter comprovante na ocasião da remessa do material para o CPVDF, A/C Protocolo Técnico, ou através de FAX (051) 481-3337. Colocar informações sobre o material coletado no comprovante de pagamento.

d) Enfatizamos a necessidade de que sejam tomados cuidados com a embalagem dos materiais. Esses devem ser remetidos em condições que garantam a segurança biológica entre o local de remessa e a chegada no CPVDF. Para tal, os materiais devem ser acondicionados em container à prova de água bem vedados, envoltos em quantidade suficiente de material absorvente que seja capaz de absorver eventuais vazamentos. Deve ser incluída com o material para exame uma anamnese o mais completa possível e as informações sobre os exames pretendidos.

PROBLEMAS DE REPRODUÇÃO: abortos, natimortos, fetos mumificados, retornos, descargas vulvares.

Problemas reprodutivos ocorrem em todas as espécies domésticas. Aqueles de origem infecciosa podem ser causados por vírus ou bactérias.

Materiais para exame laboratorial:

Fetos natimortos ou múmias podem ser enviados em refrigeração (4°C em gelo) logo após expelidos, para evitar autólise.

Corrimentos Vulvares: podem ser colhidos através de cotonetes ou OB e acondicionados em tubo de vidro estéril ou saco plástico e enviados em refrigeração (4°C em gelo) ao laboratório. Em caso de locais distantes, é aconselhável que seja utilizado meio de transporte para evitar ressequimento.

Amostras de soro de reprodutores: (machos e fêmeas) podem ser enviados refrigerados (4°C) ou congelados, desde que não contenham hemácias, evitando a hemólise.

Em muitos casos são necessários duas amostras de soro de cada animal, colhidas a cada 20 dias.

BACTERIOLOGIA

Clostridioses: Enterotoxemias são confirmadas laboratorialmente pela detecção de toxinas presentes no conteúdo intestinal. O histórico de vacinação deve acompanhar a amostra. Remeter aproximadamente 20 ml de conteúdo do íleo em frasco limpo mantido a 4°C. Em casos de doença do rim pulposo remeter urina para pesquisa da glicosúria.

Enterites:

Bacterianas - Enviar em refrigeração (4°C em gelo): suabes retais ou amostras de fezes ou fragmentos de intestino com conteúdo (amarrado nas extremidades). Em alguns casos, como adenomatose de suínos, em fragmentos de íleo e ceco, fixados em formol a 10%. A necropsia deve ser, no máximo, 2 a 4 minutos após a morte ou eutanásia do animal.

Mastite: Amostras de leite devem ser coletadas antes da aplicação de medicamentos. Os cuidados na coleta são importantes para evitar a contaminação das amostras com fezes ou bactérias de outros locais. Na ponta do teto deve ser aplicado, antes da coleta, uma solução antisséptica e os primeiros jatos de leite devem ser desprezados antes de serem coletados em fracos estéreis.

Suabes: Suabes de ouvido, lesões de pele, abscessos, laringe, amígdalas, etc...devem ser densamente embebidos com o material infeccioso e, para manter a viabilidade dos microrganismos até a chegada dos suabes no laboratório, estes podem ser remetidos imersos em meios de cultura adequados para o transporte (stuart).

Visceras: As vísceras devem ser coletadas de preferência em vidros individualizados para evitar contaminação cruzada. As vísceras devem ser remetidas refrigeradas (4°C em gelo) para o exame microbiológico. Porções de órgãos são mais apropriadas para o exame bacteriológico que suabes destes órgãos.

PARASITOLOGIA

Helmintos (Fezes):

Vermes gastrintestinais - as contagens de ovos nas fezes, requerem um mínimo de 5g de fezes, coletadas diretamente do reto. Conservar sob refrigeração (4°C em gelo).

Vermes pulmonares - especificar sempre a solicitação.

Fasciolose - observação de ovos nas fezes. Solicitar exame específico. Fasciolose aguda, especialmente em ovinos pode ocorrer antes do aparecimento de ovos nas fezes. Icterícia e anemia são os principais sintomas clínicos.

Coccidiose - Enterites podem ser observadas em terneiros e cordeiros, especialmente, até os 5 ou 6 meses da idade. Amostras de fezes devem ser enviadas em refrigeração (4°C em gelo) para pesquisa de oocistos.

Criptosporidiose - Determina enterite em animais com poucos dias de idade (até duas semanas, geralmente). Solicitar exame específico.

Visceras (Estômago, intestino, fígado, pulmões) - para contagem e identificação de vermes adultos.

Ectoparasitas:

Carrapatos - amostras para identificação devem ser preservadas em álcool a 70° C, amostras de fêmeas adultas ingurgitadas (teleóginas) para testes carrapaticidas, devem ser coletadas e enviadas para o laboratório dentro de 24 horas.

Sarnas - raspados profundos da lesão, especialmente das bordas, são mais apropriados para pesquisa de ácaros causadores de sarna.

Piolhos - exemplares para identificação laboratorial, em frascos de vidro com álcool a 70° C.

Larvas de dípteros - agentes de berne e bicheira, podem ser enviados a laboratório para identificação, em frascos de vidro, preservados em álcool a 70° C.

Hemoparasitas:

Esfregaços de sangue - exames para babesiose, anaplasmoses, tripanosomíase e outros hemoparasitas presentes no sangue, podem ser requeridos através de esfregaços finos, preferencialmente fixados com metanol. Alternadamente, uma pequena amostra de sangue, coletada com anticoagulante (EDTA, p.ex.) e mantida sob refrigeração (4°C em gelo) pode ser enviada ao laboratório para pesquisa de hemoparasitas.

Visceras - fragmentos de baço, rins, coração, fígado e cérebro, conservados sob refrigeração (4°C em gelo).

Soro - para pesquisa de anticorpos contra **Babesia sp.** e **Anaplasma marginale**. Utiliza-se este procedimento, especialmente em estudos epidemiológicos, avaliações de situações de estabilidade ou instabilidade enzoótica para hemoparasitas e acompanhamento de bovinos vacinados.

SOROLOGIA

Estão disponíveis, na Equipe de Virologia, testes sorológicos para as seguintes doenças:

Ruminantes:

- Diarréia Vírica Bovina
- Rinotraqueite Infecciosa Bovina
- Maedi-visna
- Leucose Bovina
- Língua Azul
- Estomatite Vesicular
- Febre Aftosa(VIA)

Suínos:

- Doença de Aujeszky
- Parvovirose
- Peste Suína Clássica

Obs: para a realização destes testes deverão ser remetidas amostras de soro (límpido e sem hemólise) em tubos ou frascos devidamente identificados e acondicionados em caixa de isopor com gelo ou mantidos em refrigeração até a chegada no laboratório.

VIROLOGIA

Para realização do diagnóstico de uma doença viral diversas técnicas laboratoriais podem ser empregadas. Na Equipe de Virologia do CPVDF, as técnicas rotineiramente empregadas são:

Isolamento viral: pode ser um processo demorado, porém o resultado positivo é um indicio claro de uma infecção viral.

Provas sorológicas: as principais provas empregadas são: Inibição da Hemoaglutinação, Imunodifusão em Gel de Agar; Vírusneutralização e ELISA (ver item referente a esta prova). Para a remessa das amostras deverão ser observadas as recomendações citadas no item sorologia. Além disso, as amostras deverão estar acompanhadas das informações referentes a idade do animal (tratando-se de animais jovens também deverá constar se o animal recebeu colostro ou não) e dados sobre as vacinações recebidas, que serão de extrema valia na interpretação dos resultados. Em alguns casos, a remessa de nova amostra num intervalo mínimo de duas semanas se faz necessário para uma melhor avaliação do quadro clínico.

Exame histopatológico: o resultado do exame histopatológico pode ser, em alguns casos, mais rápido do que certas provas sorológicas e do isolamento viral. A presença de certas modificações nos tecidos (ex.: presença de corpúsculos de inclusão) poderá ser suficientemente característica para permitir o diagnóstico sem a necessidade de isolar o agente.

Testes de imunofluorescência: existem dois tipos: 1) imunofluorescência direta - IFD (ex.: Raiva) que é uma prova rápida, porém o resultado final depende do isolamento viral (prova complementar). Nos casos positivos, o resultado parcial pode estar disponível em 24 horas permitindo iniciar imediatamente um processo terapêutico ou de vacinação. 2) imunofluorescência indireta - IFID (ex.: Peste Suína Clássica) esta é uma prova mais laboriosa do que a IFD, porém não há dependência do isolamento viral, pois a prova é mais específica.

ELISA: é uma prova imunoenzimática, sensível e rápida para ser realizada. Esta prova pode ser utilizada para detectar tanto a presença de antígeno viral, quanto de anticorpo.

PAGE (eletroforese em gel de poliacrilamida): é uma técnica que detecta segmentos do genoma viral. Esta prova é utilizada para o diagnóstico de rotavírus em fezes.

Amostras para isolamento viral:

- Coletar o material, a ser remetido, da forma mais asséptica possível.
- Remeter somente material em bom estado de conservação.
- As amostras deverão incluir tecidos que apresentem lesões e os gânglios linfáticos que drenam as áreas afetadas.
- As amostras deverão ser encaminhadas para o laboratório o mais breve possível, acondicionadas em sacos plásticos ou vidros limpos e mantidas em refrigeração ou em gelo (evitar o contato do material com o gelo). Como alternativa, uma parte da amostra poderá ser remetida em líquido de Vallée (ou glicerina a 50%).
- exame virológico e outra parte em formol a 10% - exame histopatológico.
- Todas as amostras deverão estar bem identificadas e conter o maior número de informações possíveis sobre o quadro clínico.

Fórmula do Líquido de Vallée:

Fosfato monopotássico(KH_2PO_4).....	1,80 g
Fosfato dipotássico(K_2HPO_4).....	2,30 g
H ₂ O destilada	1.000 ml
Glicerina neutra	1.000 ml
pH 7,4 a 7,8	
pH maior do que 7,8 - adicionar fosfato monopotássico	
pH menor do que 7,4 - adicionar fosfato dipotássico.	

HISTOPATOLOGIA

Os tecidos para exame histopatológico deverão ser remetidos em solução de formol-salina a 10%. Os fragmentos precisam ser pequenos (máximo de um centímetro de espessura) e devem estar imersos em uma quantidade de fixador, no mínimo dez vezes maior do que o seu próprio volume.

Os frascos necessitam ter boca larga, caso contrário, o laboratório terá dificuldade em retirar o tecido fixado do frasco.

Caso haja necessidade de exame bacteriológico e/ou virológico, também deverão ser remetidas porções de material fresco.

Tumores deverão conter uma margem de tecido aparentemente normal e, em caso de neoplasias removidas cirurgicamente, o material coletado precisa estender-se até a margem da ferida.

O tempo médio requerido para a obtenção do resultado é de aproximadamente uma semana.

Formol-salina a 10%

Formaldeído a 40%	200 ml
Cloreto de sódio	17 g
Água destilada	1800 ml

MICOLOGIA

Dermatomicose: raspado superficial da pele de mucosa.

Dermatofitose: raspado superficial da pele nos bordos da lesão que contenha pelos e pele descamada.

Dermatofilose: raspado superficial da pele para retirada de crostas.

Enviar o material obtido através de raspador em envelope de carta, com dados sobre o animal: idade, sexo, função; sobre a lesão: aspecto, tamanho, extensão, formato, presença de reação inflamatória, umidade.

Micoses Subcutâneas: através da biologia retirada do graneloma, enviar parte do material conservado em gelo e parte conservado em formol a 10%.

Micoses profundas: secreções, exudatos, líquidos corpóreos conservados em gelo; fragmento de órgãos parte conservados em gelo, parte conservados em formol a 10%.

Ex.: Micotoxicológico

Rações e Grãos

Sacos de 50-60 kg - retirar por perfuração ou calagem 30 g de cada saco e fazer uma amostra média que represente 10% do lote de sacos, coletar em diferentes alturas da pilha e em diferentes locais do armazém-depósito. Homogeneizar e coletar 1 kg e enviar ao laboratório.

Grãos e Rações à granel - coletar 40 kg para cada 500 t ou fração, fazer uma amostragem média, homogeneizar e enviar 1 kg ao laboratório, em vidro limpo, seco e hermético.

CIRCULARES TÉCNICAS já publicadas:

- N^o 1 - Relação de doenças e agentes patogênicos em plantas olerícolas de interesse ao Mercosul
- N^o 2 - Relação de doenças e agentes patogênicos em fruteiras de interesse ao Mercosul
- N^o 3 - Dados de fenologia e produção de cultivares de ameixeira (*Prunus salicina* Lindl.)
- N^o 4 - Coleta e remessa de materiais para diagnóstico de doenças de suínos
- N^o 5 - O controle correto do carrapato