

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

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 Gastrite e 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	×	×	×	×	×
Rotavírus 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"



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 destrinchar 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: CRUAI/GOA



FOTO: CRUAI/GOA

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.

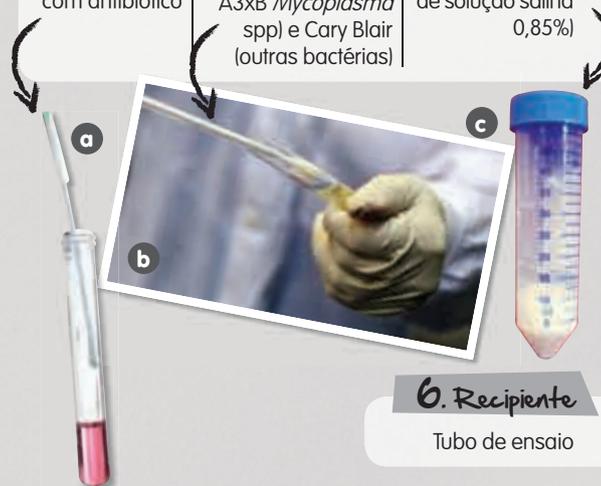


5. Meio

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 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 espéculo, 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 <i>Trichomonas foetus</i> |
|----------------------|--------------------------|--|

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 (<i>Campylobacter</i> spp), A3xB (<i>Mycoplasma</i> 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 espéculo 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

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**