

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

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

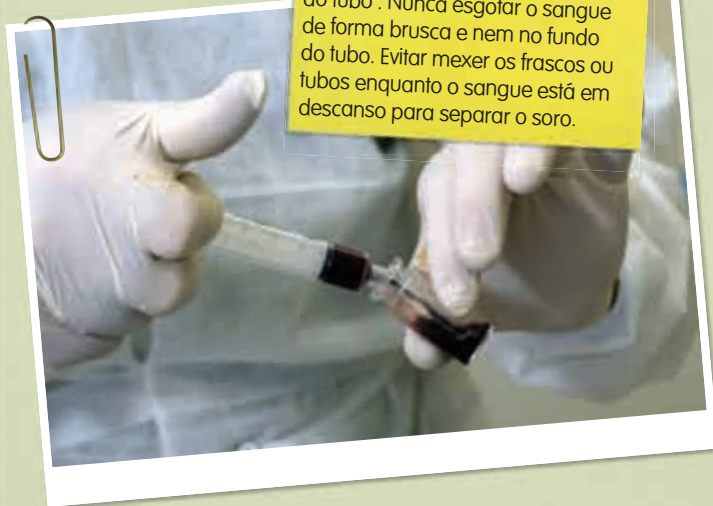
a) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C).

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:

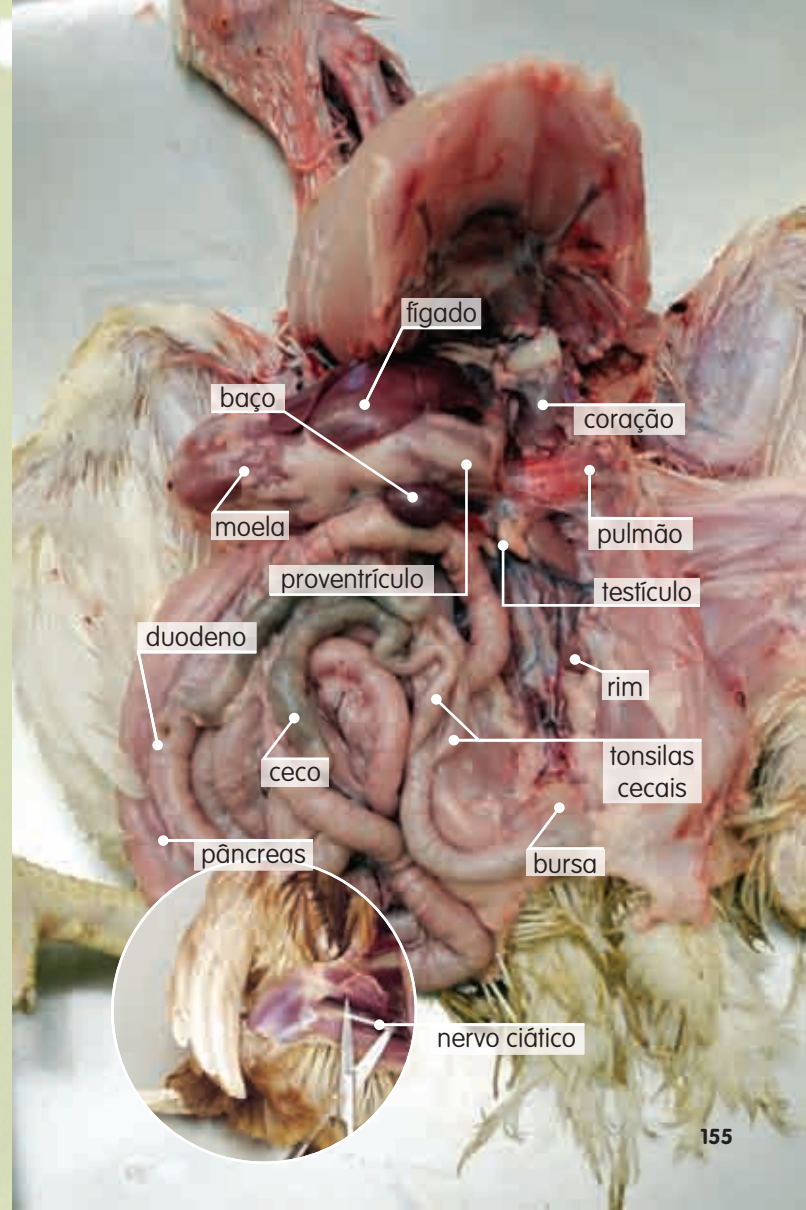
1. Traquéia, pulmão e orofaringe;
2. Coração, fígado, baço e rins;
3. Cérebro, cerebelo e nervo ciático; e
4. Proventrículo, moela, bursa, duodeno, pâncreas, tonsilas cecais e ceco.

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

NOTA

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

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)



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

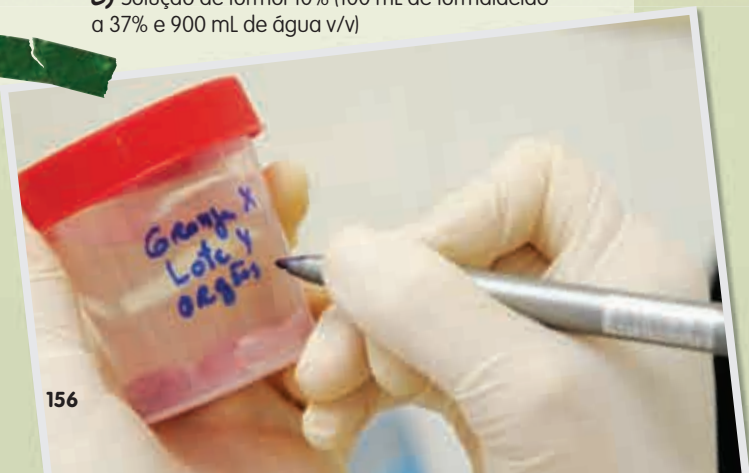
a e b) Frasco coletor ou tubos tipo Falcon, agrupados segundo descrito no item 3.

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

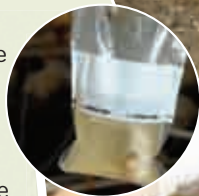
a) Usando luvas descartáveis, abrir a embalagem do suabe de arrasto dentro do galpão a ser amostrado. Segurar o suabe pelo cordão e caminhar pelo galpão, arrastando-o sobre a cama, principalmente entre comedouros e bebedouros. Colocar o suabe dentro do recipiente com o meio para transporte, cortando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

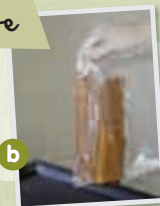
b) Nenhum

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

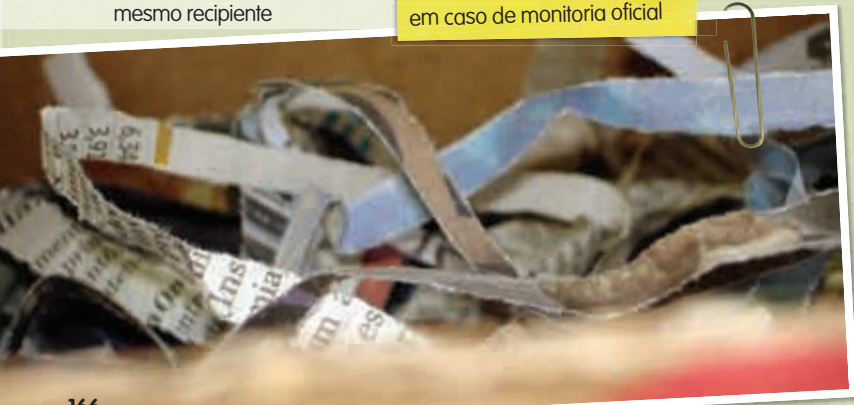
Usando luvas descartáveis, transferir
o material que forra a caixa para
sacos plásticos resistentes

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

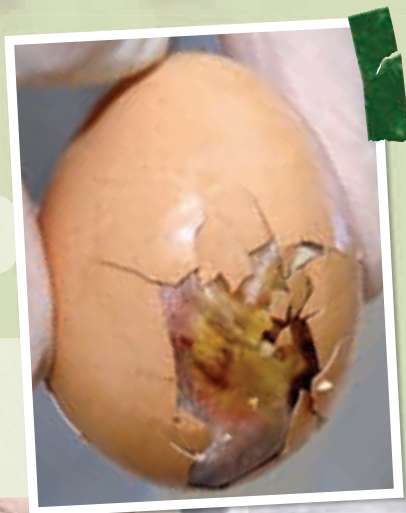
Ovos bicados

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



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**