



PROCEDIMENTOS E ORIENTAÇÕES PARA COLETA PARA DIAGNÓSTICO DE MYCLOPASMA POR PCR

1. COLETA DE LEITE PARA DIAGNÓSTICO DE MASTITE

A mastite, que consiste na inflamação da glândula mamária, normalmente seguida de infecção, é considerada a doença de maior importância econômica na exploração leiteira, afetando diretamente o produtor, devido a perdas em produção de leite e trazendo prejuízos indiretos com medicamentos, descarte de leite e animais.

Um dos exames, além da cultura, comumente realizado no laboratório pro diagnóstico da mastite bovina é o PCR (reação em cadeia da polimerase) que consiste na amplificação de ácido nucleico (DNA) *in vitro*, e é considerada a melhor ferramenta para diagnóstico molecular do *Mycoplasma*. A análise pode ser realizada em amostras individuais para diagnóstico pontual, e em tanque como ferramenta de monitoramento do rebanho.

A interpretação dos resultados, a análise das informações obtidas e a adoção de medidas estrategicamente planejadas são fatores de sucesso no controle da mastite.

Exames: Pesquisa direta do agente por PCR – *Mycoplasma spp.* e *Mycoplasma bovis*

Materiais:

- Tubos ou frascos estéreis e tampa de rosca;
- Luva descartável;
- Álcool 70%;
- Solução desinfetante, Hipoclorito 5%;
- Algodão ou gaze;
- Papel toalha.

Procedimentos:

Amostra Individual de Leite

1. Limpar os tetos sujos - Caso o úbere esteja sujo de barro ou esterco, limpe somente os tetos antes de imergi-los na solução antisséptica - só utilizar água em casos extremos de sujeira;
2. Realizar o pré-dipping com solução desinfetante - Preparar os tetos limpando-os com uma solução de desinfetante (base de Iodoflor (1%) ou Hipoclorito de Sódio (5%)) através da imersão das mesmas. Trinta segundos depois remover o excesso de desinfetante com papel toalha seco (um para cada teto). Começa-se sempre limpando dos mais distantes e depois os mais próximos.
3. Desinfetar a ponta dos tetos com algodão embebido em álcool 70%, também começando primeiro pelos tetos distantes depois os próximos;
4. O ordenhador deve lavar e desinfetar as mãos antes do procedimento de coleta e borrifar o antebraço com álcool 70% também a cada troca de animal;
5. Utilizar luvas descartáveis que devem ser trocadas a cada animal - calçar uma luva em cima da outra e ir retirando a cada troca de animal;
6. Utilizar frasco estéril - abrir o mesmo apenas no momento da coleta, de forma que a tampa fique protegida (Não deixar o frasco encostar nos tetos ou em qualquer outra superfície);

7. Fazer a completa identificação do animal no tubo, com letras legíveis, utilizando caneta permanente (pra não sair em contato com o gelo);
8. Desprezar os três primeiros jatos de leite de cada teto;
9. Coletar primeiro dos tetos mais próximos, não encher o frasco completamente.
10. Após coletar, fechar imediatamente o frasco e congelar a amostra.

Amostra de Tanque

1. O tanque deve estar em agitação por um período mínimo de 15 minutos antes da coleta;
2. Embeber a concha com álcool, flambar (colocar fogo) por alguns segundos e esfriar a concha no próprio leite do tanque;
3. Colher o leite em movimentos verticais;
4. Utilizar frascos estéreis;
5. Colher 5 (cinco) amostras do mesmo tanque em dias consecutivos;
6. O exame é garantido, segundo fabricante, em tanques com amostra de até 100 animais.



2. COLETA DE MATERIAL PARA DIAGNÓSTICO DE PROBLEMAS RESPIRATÓRIOS

Exames: Pesquisa direta do agente por PCR – *Mycoplasma bovis*

Materiais:

- Tubos ou frascos estéreis e tampa de rosca;
- Luva descartável;
- *Swab* estéril simples sem meio de cultura.

Procedimentos:

Amostra Swab Nasal

1. Limpar o local com gaze estéril umedecida em solução fisiológica (retirando crosta, se houver)
2. Abertura do *swab* somente no momento da coleta;
3. Introdução do *swab* na cavidade nasal;
4. Movimento de rotação (friccionando energicamente o local) para coletar o material;
5. Utilizar um *swab* para cada narina.
6. Acondicionar em tubo estéril seco e congelar logo após a coleta.

Amostra Órgãos

1. No caso de óbito – Retirar os órgãos (pulmão, traqueia) durante a necropsia;
2. Coletar fragmento, de ambos, em tubo estéril seco e congelar logo após a coleta.

3. ENVIO DO MATERIAL

O material coletado deverá ser congelado e enviado sob refrigeração (+2°C a +8°C), identificados e em caixas de isopor com gelo reciclável, lacrada e identificada, com a ficha de solicitação de exames e ficha de cadastro. Em caso de dúvidas entrem em contato com o laboratório.