

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.

1. 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 entrarem em contato com o laboratório.

LABORATÓRIO VETERINÁRIO

COLETA DE EXAME PARA BVDV

AMOSTRA: Soro – Colher em tubo de ensaio sem anticoagulante: TAMPA VERMELHA/AMARELA

Procedimentos:

1. Identificar corretamente o número do animal no tubo.
2. O sangue coletado deverá ser colocado em frascos próprios e estéreis, manter o tubo inclinado em temperatura ambiente para que coagule e libere o soro (30 a 60 min). Transferir o soro para outro tubo estéril (tampa com rosca ou tipo "Eppendorf") e congelar até o envio.

OBS: 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.

AMOSTRA: Fragmentos de cartilagem auricular – Orelha

Material: Colher em tubo tipo "Eppendorf" estéril

Procedimentos:

1. Identificar corretamente o número do animal no tubo.
2. Coletar fragmentos da extremidade da orelha, com auxílio de um mossador (de preferência de suínos), com aproximadamente 5-7 milímetros de diâmetro (mais ou menos do tamanho igual àqueles furadores de papel para pasta).
3. Se possível realizar a tricotomia para certificar que está coletando a cartilagem
4. Desinfetar o mossador entre um animal e outro com álcool 70%
5. Após a coleta, armazenar os fragmentos em microtubos Eppendorf® e congelar até o envio.
6. Estar sem receber vacina 15 dias antes da coleta

7. Até 6 meses idade sempre o fragmento orelha, acima de 6 meses pode ser soro.



AMOSTRA: Leite

Material: Colher em tubo estéril (coletor de urina, tubo tipo falcon)

Procedimentos:

1. Identificar corretamente o número/ nome do animal no tubo para amostras individuais.
2. O tanque (de até 100 animais) deve estar em agitação por um período mínimo de 15 minutos antes da coleta.
3. Embeber a concha com álcool, flambar (colocar fogo) por alguns segundos e esfriar a concha no próprio leite do tanque
4. Colher o leite em movimentos verticais em frascos estéreis
5. Após a coleta, congelar as amostras.

Envios de amostras:

Enviar sob refrigeração (+2°C a +8°C), o material tem que estar congelado, 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 entrarem em contato com o laboratório.