

MANUAL COM ORIENTAÇÕES PARA COLETA E ENVIO DE MATERIAL



Laboratório Ecolvet – Análises Veterinárias, Ambientais e de Alimentos.
Rua Quatá, 78 Jardim San Remo Londrina – PR
CEP 86062-580
Tel/Fax: (43) 3327 2373

2007

Índice

Apresentação	03
1. Orientações Gerais	03
1.1 Coleta, Preparo e Remessa de Materiais para Diagnóstico	03
1.2. Acondicionamento e Transportes de Amostras	04
1.3 Resultados	05
1.4 Sugestões	05
2. Procedimentos para Coletas	06
2.1 Coleta de Amostras de Água	06
2.2 Coletas de Amostras para Análise Microbiológica de Alimentos	07
2.3 Coleta de Amostras para Exame Bacteriológico Veterinário	08
2.4 Coleta para Exame Parasitológico	09
2.5 Coleta para Exame Histopatológico	10
2.6 Coleta para Exame Sorológico	10
2.7 Coleta para PCR	12
3. Referências	12
4. Anexos	
I - Tabela Resumida	13

Apresentação

Este manual foi desenvolvido pelo Laboratório Ecolvet com o objetivo de orientar a coleta e envio de materiais para análise, procurando de forma prática e simples sistematizar as formas de coleta, preparo e transporte de material biológico para diagnóstico, proporcionando o recebimento de materiais para a realização de uma análise segura. Informações adicionais sobre o fluxo de amostras e saídas de resultados no Ecolvet podem ser obtidas através do Manual de Qualidade no documento IA-GE-007.

1. Orientações Gerais

1.1 Coleta, Preparo e Remessa de Materiais para Diagnóstico

- Ao enviar o material, sempre identifique as amostras de forma clara e única, com etiquetas ou canetas de difícil remoção.

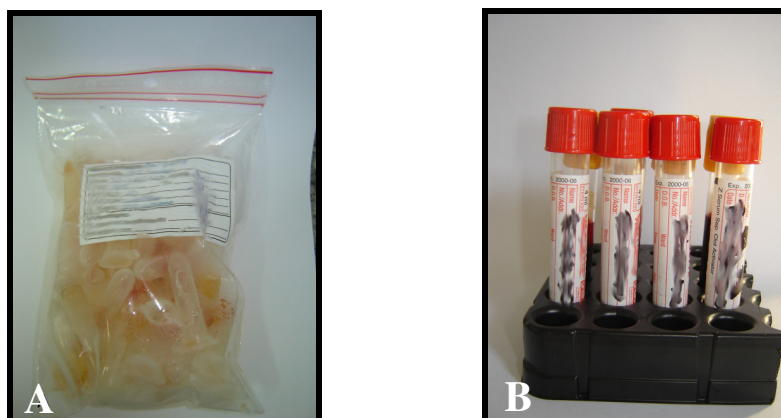


Figura 1(A e B) – Exemplos de identificações das amostras com etiquetas individuais

- Na etiqueta deve constar informações suficientes que identifiquem o material em questão, (Ex: Descrição, Data de Coleta, Responsável pela Coleta etc.).

- Deve-se tentar evitar contaminações cruzadas entre amostras (preparar conjuntos de amostras únicas, não misturar tubos com amostras diferentes, etc.), e sempre utilizar de instrumentos estéreis ou novos (frascos, seringas, agulhas, sacos plásticos)

1.2. Acondicionamento e Transportes de Amostras

- As amostras devem ser acondicionadas em embalagem seguras, livres de vazamentos.

- Para o transporte, colocar as embalagens dentro de caixas de isopor com gelo reciclável ou garrafas de refrigerante congeladas, nunca colocar cubos de gelo soltos, para evitar o acúmulo de água. Envolver as embalagens com jornal para preencher espaços vazios e evitar impacto durante o transporte.
- Junto com o material, enviar o formulário de entrada (conf. Anexo 2) devidamente preenchido com as informações das amostras. Ele deve ser anexado do lado de fora da caixa de isopor ou, se envolvido por um saco plástico bem fechado, pode ser transportado dentro da caixa de isopor.

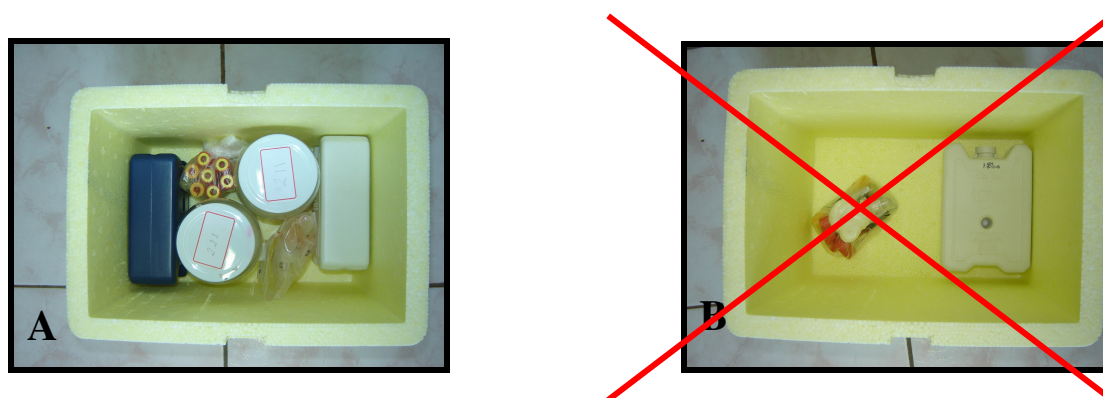


Figura 2 (A) - Maneira correta de envio de material, com todos os espaços preenchidos e utilizando gelo reciclável. **(B)** - Maneira incorreta de envio de material, com a amostra solta na caixa. Para o envio correto, preencher os espaços vazios com jornal e gelo reciclável.



Figura 3 – Formas de anexar o formulário de envio da amostra – (A) Colado na tampa do isopor, (B) colado na lateral, e (C) desde que colocado dentro de um saco plástico bem lacrado, pode ser enviado dentro do isopor.

- A embalagem externa (caixa de isopor, etc.) deve conter informações mínimas, como segue o modelo de etiqueta externa para embalagem, abaixo, mas não só limitadas à essas informações:

DESTINO:

ECOLVET – Laboratório de Análises Ltda
 Rua Quatá, 78 – Jardim San Remo
 Londrina – Paraná – Brasil – CEP 86.062-580
 FONE / FAX: 0 XX 43 3327.2373

REMETENTE:

IDENTIFICAÇÃO: _____

ENDEREÇO: _____

CIDADE: _____ UF: ____ CEP: _____ - _____

TELEFONE PARA CONTATO: _____

RESPONSÁVEL TÉCNICO PELO ENVIO DO MATERIAL:

MÉD. VETERINÁRIO: _____ CRMV: _____

CONTATO > CELULAR: _____

**RISCO BIOLÓGICO**

Em caso de contato ou derramamento, comunicar imediatamente o Médico Veterinário responsável pelo envio da amostra.

1.3 Resultados

- Todos os resultados serão disponibilizados online no site www.ecolvet.com.br e poderão ser acessados pelos clientes através de login e senha pessoais e intransferíveis, entregues somente ao solicitante. É de responsabilidade deste gerenciar seu login e senha. Os laudos originais são enviados por correio ou entregue em mãos para o solicitante. O envio dos resultados apenas será feito por fax, e-mail ou entregue a outras pessoas mediante prévia autorização do solicitante (vide formulário de acompanhamento).

1.4 Sugestões a serem utilizadas na hora da coleta (Em caso de dificuldade)

<i>Na ausência de:</i>	<i>O que pode se fazer:</i>
Luva para Procedimento	Lavar muito bem as mãos com água e sabão e fazer a assepsia com álcool 70%.
Gelo comercial	Colocar água em garrafas PET e congelar; Colocar gelo normal em saco plástico (deve ter um volume bem grande – mais ou menos 40 cubos)
Vidros e outros materiais estéreis	Pegar um vidro com tampa ou outro material, lavar bem com água e sabão colocar em uma panela grande, cobrindo com água até 5 cm acima do vidro ou outro material (o vidro deve estar destampado). Ferver durante 30 minutos, contados a partir da ebulição. Deixar esfriar um pouco e com as mãos limpas retirar o vidro ou outro material e deixar esfriando. É importante que todo esse processo seja feito em ambiente limpo.

2. Coleta de Amostras

2.1 Coleta de Amostras de Água de Consumo (torneiras, etc.)

2.1.1 Materiais Necessários:

- Vidro estéril (ou embalagem plástica estéril)
- Álcool 70%
- Algodão
- Luva para Procedimento

2.1.2 Procedimento:

Colocar as luvas para procedimento e fazer assepsia das mãos com álcool 70%. Em seguida, com o algodão embebido em álcool 70%, limpar bem a boca da torneira, inclusive a parte de dentro. Abrir e deixar a água escoando durante 3 minutos. Coletar a amostra até obter um volume de no mínimo 500 mL. Preencher na etiqueta os seguintes dados (local de coleta, água clorada ou não clorada, data, coletado pôr, observações adicionais).

Encaminhar a amostra imediatamente para o laboratório sob refrigeração. Caso isso não seja possível, acondicioná-la em geladeira ou caixa de isopor com gelo até o momento do envio.

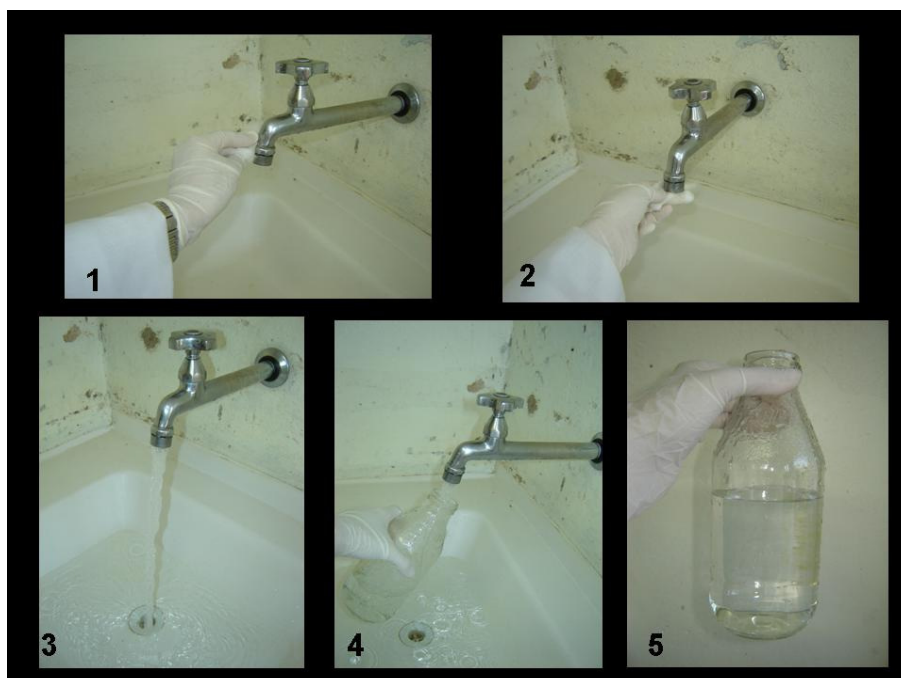


Fig. 4 – (1)- Passar um algodão ou gaze embebido em álcool 70% na torneira, inclusive na parte de dentro, como mostra a figura **2**. **(3)-** Deixar a torneira aberta durante 3 minutos. **(4) -** Coletar a água em frasco estéril até preencher 2/3 do volume (de 300 a 400 mL), como mostra a figura **5**.

2.2 Coleta de água em Cisternas, Piscinas e Caixas d'água

2.2.1 Materiais Necessários

- Cordão estéril comprido e resistente (barbante grosso ou tipo de varal)
- Vidro de boca larga
- Luva para Procedimento
- Álcool 70%
- Algodão

2.2.2 Procedimento

Colocar a luva e fazer a assepsia da mesma forma como foi indicada anteriormente. Amarrar o cordão em volta da boca do vidro (Fig. 5) e mergulhá-lo na cisterna segurando-o pelo cordão. Fazer a coleta bem no centro da cisterna, evitando coletar a água das margens.

Procedimento para envio é o mesmo indicado anteriormente.

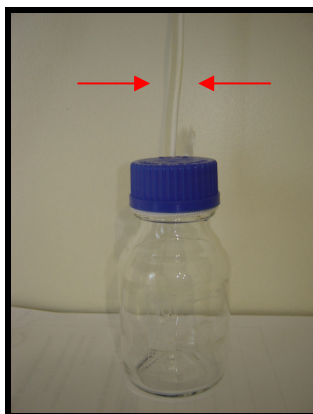


Fig. 5 – Frasco com um cordão (tipo de varal) amarrado ao redor da boca.

2.3 Coletas de Amostras para Análise Microbiológica de Alimentos

2.3.1 Materiais Analisados

- Amostras de alimentos em geral
- Farinhas de carne, penas, ossos, etc.

2.3.2 Materiais necessários

- Embalagem plástica resistente nova ou frasco estéril de boca larga

2.3.3 Coleta de amostras de alimentos acondicionados em embalagens individuais.

Amostras de alimentos acondicionados em embalagens individuais devem ser enviadas ao laboratório na sua embalagem original, fechada e intacta. O volume a ser enviado deve ser igual ou maior do 100g ou 100ml. Se a embalagem unitária for menor que a quantidade recomendada para o envio, recomenda-se coletar várias embalagens unitárias.

2.3.4 Coleta de amostras acondicionadas em embalagens não individuais.

No caso de alimentos contidos em embalagens grandes, difíceis de serem transportados até o laboratório, deve-se coletar porções representativas da massa total para frascos estéreis ou sacos plásticos novos. É recomendável que não manipule o alimento com as mãos, mas se for o caso, lavá-las bem com água e sabão ou utilizar luvas para procedimento.

2.3.5 Armazenamento e transporte da amostra

As amostras devem ser armazenadas em caixas isotérmicas refrigeradas com temperatura em torno de 4°C e mantidas por não mais que 48 horas até serem processadas.

As amostras destinadas à contra prova do diagnóstico bacteriológico deverão ser mantidas em temperatura de -10°C por um período de 07 dias após a data de conclusão da análise, no próprio laboratório Ecolvet, ou sob sua supervisão. Após esse período, as amostras serão destruídas conforme os critérios e normas de segurança biológica.

2.4 Coleta de Amostras para Exame Bacteriológico Veterinário

2.4.1 Materiais Analisados

- Órgãos
- Suabes (cloaca, traquéia, propé, arrasto)
- Ovos
- Aves vivas ou mortas
- Cama de Aviário

2.4.2 Materiais necessários

- Tesoura e pinça estéreis (no caso de envio de órgãos)
- Suabes

- Frascos de boca larga ou sacos plásticos novos
- Luva para procedimento

2.4.4 Procedimentos para Coleta de Material

- **Órgãos:** Abrir a ave cuidadosamente, com tesouras e pinças (lembrando sempre de usar luvas para procedimentos) e retirar os órgãos inteiros. Armazenar em frascos de boca larga ou sacos plásticos novos. Manter sob refrigeração.
- **Suabes de Cloaca e Traquéia:** Abrir o suabe no momento da colheita, verificando em qual lado do pacote se encontra o cabo, e abrí-la por este lado, evitando tocar no algodão. Passar um suabe por ave, cortar a extremidade que estava em contato com as mãos e mergulhar no frasco contendo o meio transporte (água peptonada para suabe de traquéia e meio leite para suabe de cloaca, que são adquiridos no Laboratório Ecolvet). Os suabes sempre devem ser enviado em meio transporte e sob refrigeração para o Laboratório Ecolvet.
- **Ovos:** Coletar de 10 a 15 ovos inteiros por lote. Enviar em caixas específicas para ovos ou outro similar que os proteja bem evitando quebras.
- **Aves vivas ou mortas:** No caso de aves vivas, coletar aquelas em início de manifestação clínica. Aves mortas devem ser mantidas sob refrigeração até o momento do envio. Aquelas em estado avançado de decomposição não são aproveitáveis.
- **Cama de aviário:** Coletar amostras de vários pontos do galpão, totalizando no mínimo ½ kg por amostra. Armazenar em sacos plásticos novos e enviar para o Laboratório Ecolvet em temperatura ambiente ou sob refrigeração.

2.5 Coleta para Exame Parasitológico

2.5.1 Materias Analisados

- Fezes
- Intestino
- Cama de Aviário
- Aves vivas

2.5.2 Materiais necessários

- Frascos ou sacos plásticos

2.5.3 Procedimento de Coleta

Coletar em média 10g de fezes frescas (24 –48 horas), coletadas de vários pontos.

Para amostras de intestino, coletar a porção final do intestino.

Cama de aviários, devem ser coletados de vários pontos, em uma quantidade de no mínimo 500g.

Aves vivas com início de sintomas clínicos.

Enviar todas as amostras refrigeradas, com exceção das aves vivas que devem ser enviadas sob temperatura ambiente..

2.6 Coleta para Exame Histopatológico

2.6.1 Materiais Analisados

- Órgãos diversos

2.6.2 Materiais necessários

- Frascos de boca larga

- Solução de Formol 10% (100 ml de formaldeído a 37% e 900 ml de água v/v)

2.6.3 Método de Coleta

Coletar órgãos ou fragmentos e acondicioná-los rapidamente em frascos de boca larga devidamente identificados contendo solução de formol a 10%. O volume ideal de formol para cada fragmento é de em torno 10 vezes o volume do material. Conservá-los em temperatura ambiente.

Órgãos como intestinos, traquéia e esôfago não devem ser abertos.

Obs: As condutas realizadas corretamente irão garantir qualidade ao teste.

2.7 Coleta para Exame Sorológico

2.7.1 Materiais Analisados

- Soros (não hemolisados)

2.7.1 Materiais Necessários

- frascos de vidro pequenos (de vacinas) ou canudos

- Eppendorfs

- Seringas

- agulhas

2.7.2 Método de Coleta

Coletar sangue em frascos pequenos e deixar que se escorra por uma lateral do recipiente formando um “tapete”. Manter os frascos inclinados a 45° em temperatura ambiente. Após passado de 3 a 18 horas há formação de coágulo e separação do soro sanguíneo, transferí-los para frascos ou Eppendorf estéreis. Enviar ao laboratório os soros refrigerados ou congelados, para o exame de sorologia rápida (SARP para Mg, Ms e Pulorose) enviar somente soro resfriado, nunca congelado. Os materiais devem ser devidamente identificados (Empresa, lote, idade, linhagem etc).

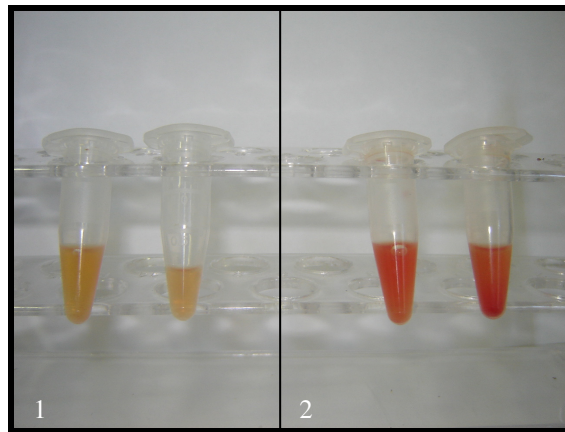


Fig.6 - (1) Exemplo de soros em ótimas condições e em **(2)** exemplo de soro não apropriado (hemolisado)

2.8 Coleta para PCR

2.8.1. Materiais Analisados

- Suabes (cloaca, arrasto)
- Camas de aviário
- Órgãos
- Aves vivas
- Ovos

2.8.2 Materiais necessários

- Suabes
- Sacos plásticos novos ou frascos de boca larga

2.8.3 Procedimento para Coleta

Materiais coletados	Método de coleta	Modo de Envio
Suabes de cloaca	Passar um suabe em cada animal e em seguida, cortar a extremidade do suabe que estava em contato com as mãos e mergulhar em frascos contendo meio transporte (adquirido no Laboratório). Pode-se também colocar os suabes dentro de um saco plástico novo (sem o meio transporte) e lacrar bem.	Sob refrigeração
Suabes de traquéia	Passar um suabe em cada animal e em seguida, cortar a extremidade do suabe que estava em contato com as mãos e mergulhar em frascos contendo meio transporte (adquirido no Laboratório). Pode-se também colocar os suabes dentro de um saco plástico novo (sem o meio transporte) e lacrar bem.	Sob refrigeração
Suabes de propé	Vestir o propé e andar por todo o galpão. Retirar o propé e colocar dentro de frascos com meio transporte (adquirido no laboratório) ou dentro de sacos plásticos novos.	Sob refrigeração
Órgãos internos	Retirar os órgãos internos com cuidado, sem rompê-los e acondicionar em frascos estéreis ou sacos plásticos novos.	Enviar congelados
Ovos	Coletar uma dúzia de ovos inteiros	Temperatura Ambiente
Aves vivas	Aves preferencialmente no início do sinal clínico.	Temperatura Ambiente

3. Referências

ABNT, 2001. **Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração**. NBR ISO/IEC 17025. jan/2001.

Ecolvet, 2007. **Fluxo de Informações, entrada de amostras e saída de resultados**. Ecolvet IA-GE-007. mai/2007.

GUERREIRO M.G. et al. **Bacteriologia especial**. Porto Alegre: Editora Sulina. 1ed., 1984.

HIRSH D.C., ZEE Y.C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. 446p., 2003.

HOFFMAN R.P. **Diagnóstico de Parasitismo Veterinário**. Porto Alegre: Sulina, 156 pp. 1987.

4. Anexos

Anexo I – Tabela Resumida, inclui ensaios realizados, tempo de análise e modo de envio

Análises	Material a ser coletado	Tempo da Análise (dias)	Modo de Envio
Exames Microbiológicos em Alimentos			
Contagem de Mesófilos	Alimentos em geral, matérias-primas.	3	Sob refrigeração
Contagem de Coliformes Totais	Alimentos em geral, matérias-primas, suabes de bancada, manipulador, equipamentos, etc.	5	
Contagem de Coliformes Fecais	Alimentos em geral, matérias-primas, suabes de bancada, manipulador, equipamentos, etc.	5	
Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva	Alimentos em geral, matérias-primas, suabes de bancada, manipulador, equipamentos, etc.	5	
Contagem de Clostrídios Sulfito Redutores	Alimentos em geral, matérias-primas.	5	
Contagem de <i>Clostridium perfringens</i>	Alimentos em geral, matérias-primas.	5	
Contagem de Bolores e Leveduras	Alimentos em geral, matérias-primas.	7	
Contagem de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Alimentos em geral, matérias-primas.	5	
Contagem de Psicotrófilos	Alimentos em geral, matérias-primas.	7	
Contagem de <i>Bacillus cereus</i>	Alimentos em geral, matérias-primas.	5	
Isolamento de <i>Listeria monocytogenes</i>	Alimentos em geral, matérias-primas.	5	
Isolamento de <i>Salmonella sp</i>	Alimentos em geral, matérias-primas.	5	
Sorotipagem de <i>Salmonella sp</i>	Cepas isoladas de <i>Salmonella sp</i>	15	Sob refrigeração
Exames Veterinários			
Cultura Bacteriana Simples	Aves vivas/mortas, órgãos, suabes em geral, ovos, fezes	3	Temperatura ambiente para aves vivas e refrigeração para os demais.
Cultura Bacteriana Especial - <i>Clostridium perfringens</i>	Aves vivas/mortas, órgãos (intestino)	5	
Cultura Bacteriana Especial - <i>Haemophilus sp</i>	Aves vivas/mortas, órgãos, suabe de traquéia	5	
Cultura Bacteriana Especial - <i>Pasteurella sp</i>	Aves vivas/mortas, órgãos, suabe de traquéia	5	
Cultura Bacteriana Especial - <i>Salmonella sp</i>	Aves vivas/mortas, fígado, baço, coração, ceco, fezes, ovário, suabe de cloaca.	5	
Identificação Micológica	Aves vivas/mortas, pulmão, ração, matérias-primas, cama de aviário.	15	
Antibiograma	Aves vivas/mortas, órgãos, cama de aviário, ovos, etc.	3	
Concentração inibidora de Antimicrobiano	Aves vivas/mortas, órgãos, cama de aviário, ovos, etc.	5	
Inoculação de vírus em ovos embrionados	Aves vivas/mortas, órgãos	30	

Análises	Material a ser coletado	Tempo da Análise (dias)	Modo de Envio
Titulação de vacina em ovos embrionados	Vacinas	10	Refrigeração ou congeladas
Diagnóstico de Botulismo	Intestino, inglúvio	5	Sob refrigeração
Histopatologia	Órgãos em geral	15	Formol 10% - refrigerado
Exames Parasitológicos			
Método de Willis	Aves vivas/mortas, fezes, intestino, cama de aviário	1	Temperatura ambiente para aves vivas e refrigeração para os demais.
Método de Baerman/Hoffman	Aves vivas/mortas, fezes, intestino, cama de aviário	1	
Ocistograma/OPG	Aves vivas/mortas, fezes, intestino, cama de aviário	1	
Escore de Lesão + Raspado da Mucosa		1	
Exames Ambientais			
Contagem Bacteriana de Ambiente	Placas com meios de cultura específicos para fungos e bactérias (material requisitado no laboratório)	3	Sob refrigeração
Contagem Fúngica de Ambiente		7	
Exame Microbiológico de Cama de Aviários	Cama de Aviário	5	
Avaliação de Desinfetantes	Desinfetantes	10	
Exames em Água			
NMP Coliformes Totais	Água de abastecimento público, poços artesianos, cisternas, minas, piscinas, água mineral.	5	Sob refrigeração
NMP Coliformes Fecais		5	
Contagem de Heterotróficos		3	
Isolamento de <i>Salmonella sp</i>		5	
Medida de pH		1	
Cloro Livre		1	
Alcalinidade		1	
Exames Sorológicos			
Sorologia Rápida para MG	Soros não hemolisados	1	Refrigeração
Sorologia Rápida para MS		1	
Sorologia Rápida para Pulorose		1	
Inibição de Hemaglutinação para DNC		3	
Inibição da Hemaglutinação para EDS		3	
ELISA para Bronquite, Gumboro, Anemia, Pneumovírus, Reovírus.		3	Refrigeração ou congelamento
Exames de Biologia Molecular - PCR			
PCR para <i>Salmonella sp</i>	Aves vivas/mortas, órgãos - fígado, baço, coração, ceco, fezes, ovário Suabe de cloaca	3	Temperatura ambiente para aves vivas e congelados ou sob refrigeração para órgãos, suabes e aves mortas.
PCR para <i>Salmonella</i> Enteritidis		3	
PCR para <i>Salmonella</i> Typhimurium		3	
PCR para <i>Mycoplasma sp</i>	Aves vivas/mortas, traquéia, pumão, sacos aéreos, articulações e suabes de traquéia.	3	
PCR para <i>Mycoplasma gallisepticum</i>		3	
PCR para <i>Mycoplasma synoviae</i>		3	
PCR para Bronquite Infecciosa	Aves vivas/mortas, traquéia, pulmão, tonsilas cecais, rim	4	
PCR para Anemia Infecciosa	Aves vivas/mortas, timo, fígado, baço, medula óssea.	4	
PCR para Toxina de <i>Clostridium perfringens</i>	Cepas de <i>Clostridium perfringens</i> , cama de aviários, intestino	3	

Análises	Material a ser coletado	Tempo da Análise (dias)	Modo de Envio
Sexagem de Avestruzes	Penugem de avestruzes com o bulbo.	3	Sob refrigeração
Exames Patológicos			
Necrópsia em Pássaros	Aves vivas/mortas	1	Aves vivas - Temp. ambiente
Necrópsia em Frangos de Cortes		1	
Necrópsia em Aves de Postura Comercial		1	Aves mortas - Sob refrigeração
Necrópsia em Avestruzes		1	