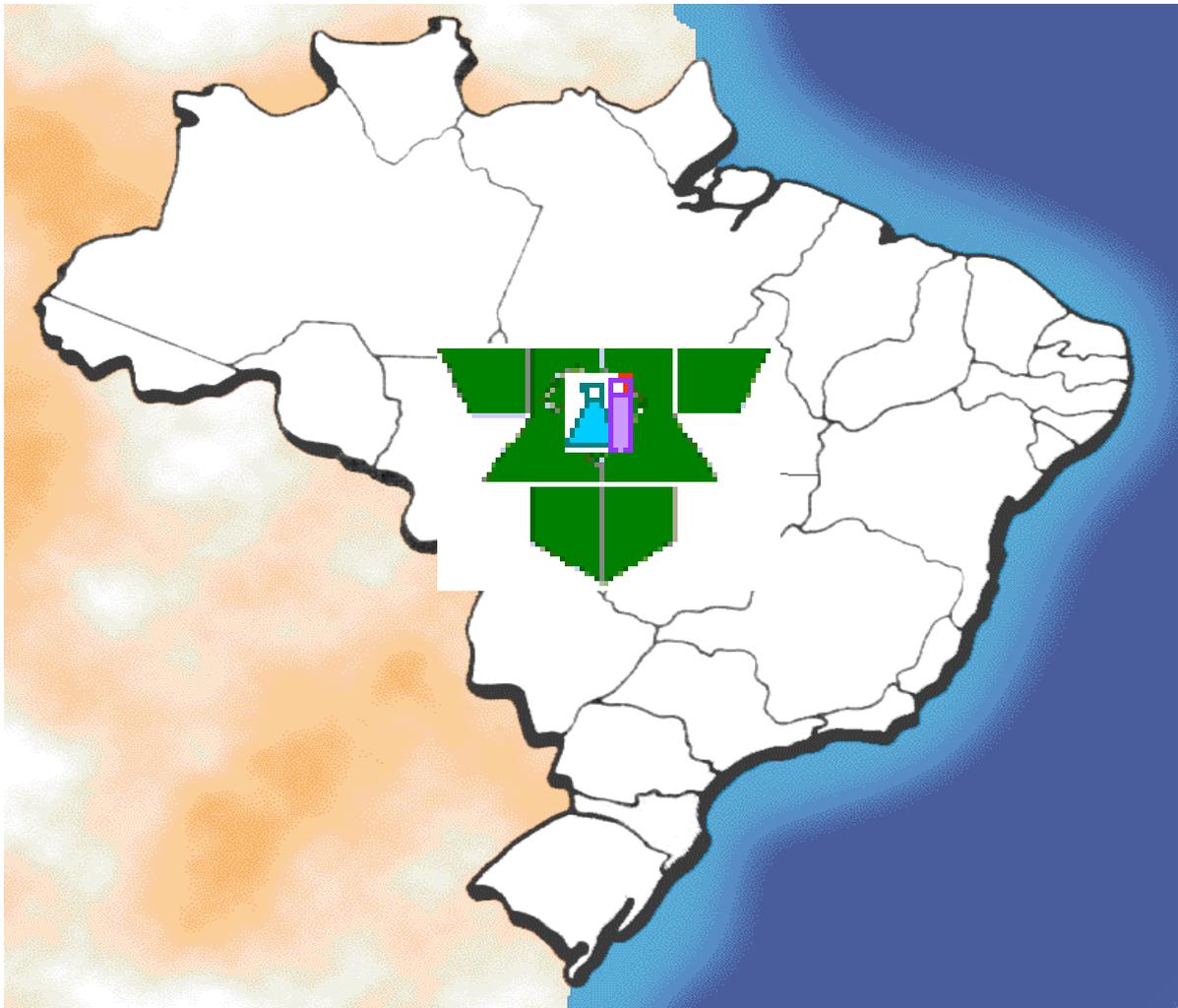




MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO MAPA

**DEPARTAMENTO DE DEFESA AGROPECUÁRIA – DDA/SDA
COORDENAÇÃO DE LABORATÓRIO ANIMAL – CLA
LABORATÓRIO REGIONAL DE APOIO ANIMAL – LARA/RS**

PROGRAMA NACIONAL DE ERRADICAÇÃO DA FEBRE AFTOSA



**PROCEDIMENTOS PARA COLHEITA, TRANSPORTE, RECEPÇÃO E
CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS DE SOROS PARA DIAGNÓSTICO
SOROLÓGICO DE FEBRE AFTOSA**

2004

ÍNDICE

| | |
|--|-------|
| 1. Objetivos e Aplicações | 3 |
| 2. Procedimentos | 3 |
| 2.1. Material | 3 |
| 2.2. Identificação dos animais | 3 |
| 2.3. Preenchimento do formulário de colheita e rótulo do tubo vacutainer | 3 |
| 2.4. Colheita de amostras | 3 |
| 2.5. Preparo da amostra | 4 |
| 2.6. Acondicionamento para transporte e envio ao laboratório | 4 |
| 2.7. Procedimentos de biossegurança | 5 |
| 2.8. Recepção das amostras no laboratório | 5 |
| 3. Laboratórios autorizados a realizar análises para trânsito | 5 e 6 |
| 4. Testes sorológicos utilizados para trânsito | 6 |
| 4.1. Bovinos | 6 |
| 4.2. Animais não vacinados e búfalos | 6 |
| Referências Bibliográficas | 6 |

ANEXOS

| | |
|--|----|
| ANEXO 1 - Lista de material para colheita e remessa das amostras de soro sanguíneo | 7 |
| ANEXO 2 - Soluções Desinfetantes | 8 |
| ANEXO 3 - Requisição de exames para ingresso de animais susceptíveis em zona livre de Febre Aftosa ao laboratório | 9 |
| ANEXO 4 - Modelo de formulário de colheita | 10 |
| ANEXO 5 - Requerimento para ingresso de animais susceptíveis à Febre Aftosa na zona livre de febre aftosa com vacinação | 11 |
| ANEXO 6 - Autorização para o ingresso de animais susceptíveis à Febre Aftosa na zona livre de febre aftosa com vacinação | 12 |
| ANEXO 7 - Formulário de Não Conformidades - Recepção de Amostras | 13 |

REQUISITOS DE QUALIDADE PARA COLHEITA, TRANSPORTE, RECEPÇÃO E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS DE SOROS PARA DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DE FEBRE AFTOSA

1 Objetivos e Aplicações

Estabelece requisitos de qualidade de colheita, acondicionamento, transporte, recepção e conservação do soro sanguíneo a ser utilizado pelo laboratório para a pesquisa da atividade viral em animais sadios (sem sintomas clínicos), destinados ao trânsito ou monitoramento sorológico.

2 Procedimentos

2.1 Material

Os materiais necessários encontram-se alistado no *anexo 1*. Os recipientes (tubos) e as agulhas para colheita de sangue devem ser esterilizados.

2.2 Identificação dos animais

Os animais que não possuem identificação (brinco, tatuagem, moxa) deverão ser brincados na orelha esquerda, na parte ventral e porção distal, evitando-se as ranhuras do pavilhão auricular. Deverá ser feita assepsia local com Iodofor 1:200, conforme *anexo 2*. A face do brinco com o número de identificação deverá ficar exposta para facilitar a leitura. Após este procedimento, aplicar "repelente/spray cicatrizante" no local.

Nos inquéritos sorológicos, seguir as orientações dos manuais específicos fornecidos pelo Departamento de Defesa Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

2.3 Preenchimento do formulário de colheita e rótulo do tubo vacutainer

A requisição de exames e o formulário de colheita devem ser preenchidos com caneta esferográfica (ou outra forma de identificação indelével) e letra legível, observando-se todos os campos em aberto, conforme modelos *anexos 3 e 4*. Registrar cuidadosamente o número de identificação do animal no tubo de colheita em rótulo de esparadrapo com caneta esferográfica, conferindo o mesmo com o número registrado no formulário. Para substituir essa forma de identificação, é necessário que a alternativa a ser empregada seja anteriormente testada. No formulário, o número do animal deve ser seguido da letra que indique o tipo de identificação que recebeu, sendo B = Brinco; T = Tatuagem; F = Marca de fogo; M = Moxa. Não deve haver numeração repetida nos frascos e nos formulários.

2.4 Colheita de amostras

Após a assepsia local com Iodofor 1:200 ou Álcool Iodado, proceder à sangria na jugular do animal, utilizando agulha individual. Caso sejam usados tubos vacutainer, a agulha própria deve ser ajustada no aplicador e introduzida na jugular, sendo o tubo pressionado, perfurando com a outra ponta da agulha o tapume de borracha. O sangue fluirá para dentro do tubo não devendo ultrapassar 60% da capacidade total (aproximadamente 6 mL).

2.5 Preparo da amostra

- Manter o sangue em repouso até dessorar (temperatura ambiente, inclinação aproximada de 45°). Caso não haja dessoramento, retalhar o coágulo com estilete individual.
- Centrifugar o sangue, se possível, visando melhor qualidade da amostra (3.000 a 5.000 rpm / 5-8 min).
- Transferir o soro (mínimo 1 mL e no máximo 50% da capacidade do frasco, deixando espaço suficiente para expansão do soro no processo de congelamento) com o mesmo número do tubo de origem.
- Tanto a centrifugação quanto a transferência do soro para o frasco deverão ser realizados em ambiente fechado e limpo de forma a minimizar a contaminação.
- Tampar os frascos.
- Desinfetar externamente os frascos, borrifando-os com solução de Ácido Cítrico a 0,2% (*anexo 2*) certificando-se de que as tampas de borracha dos frascos estejam bem ajustadas.
- Agilizar a secagem dos frascos colocando-os sobre papel toalha.
- Acondicionar os frascos já secos na posição vertical (em suportes próprios no caso de frascos tipo "eppendorf"), em sacos plásticos, contornando essa embalagem com fita adesiva (principalmente as laterais) para firmá-la e vedá-la externamente a embalagem.
- Identificar a embalagem com o nome do proprietário e da propriedade.
- Conservar as amostras na posição vertical à -20°C ou sob refrigeração, se forem enviadas em até 48 horas.

2.6 Acondicionamento para transporte e envio ao laboratório

- Acondicionar as amostras em caixas isotérmicas com gelo reciclável, seco ou comum embalado em sacos plásticos íntegros, evitando que as amostras se molhem. Recomenda-se preencher os espaços vazios com papel, amortecendo possíveis impactos.
- Desinfetar a parte externa da caixa com desinfetante recomendado para febre aftosa (ex. Carbonato de Sódio a 4% ou Ácido Cítrico a 0,2% - *anexo 2*).
- Anexar o envelope indicando o endereço completo do destinatário e remetente, acondicionado em saco plástico transparente, contendo a requisição de exames (*anexo 3*) e o formulário de colheita (*anexo 4*) devidamente preenchidos e assinados. Indicar endereços completos do destinatário e do remetente. Na requisição de exames da primeira colheita (animais em quarentena na origem) deve constar uma referência ao Requerimento para Ingresso na Zona Livre (data de expedição, destinatário) expedida pelo Serviço de Sanidade Animal (SSA) do Estado de destino, conforme modelo *anexo 5*; e na Requisição de Exames de segunda colheita (animais que já se encontram no destino), deve constar o número e/ou a data de expedição da Autorização de Ingresso (importação) conforme modelo *anexo 6* da I.N. 082/03. Cópias desses documentos serão encaminhadas pelo SSA expedidor ao laboratório designado a realizar as análises. As amostras

somente deverão ser enviadas aos laboratórios autorizados pela Coordenação de Laboratório Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (CLA/MAPA).

- Vedar a tampa da caixa contornando-a com fita adesiva.
- O frete ficará a cargo do expedidor e a entrega deverá ser a domicílio.
- Comunicar ao laboratório sobre a expedição do material

2.7 Procedimentos de Biossegurança

- A colheita de sangue deve ser feita com o máximo cuidado, incluindo o uso de botas e macacão limpos;
- As agulhas deverão ser colocadas em solução desinfetante (*anexo 2*);
- No caso específico das agulhas metálicas (quando não forem usados tubos vacutainer), essas poderão ser reutilizadas após lavagem e esterilização, a serem realizadas em laboratório ou proceder à lavagem e a fervura por uma hora.
- Durante o preparo das amostras, colocar os coágulos em um recipiente com desinfetante e dar a esse material, destinação adequada.
- O serviço oficial que executou a colheita e o preparo das amostras é responsável pelo tratamento e destino de todo material utilizado devendo obedecer as normas vigentes.

2.8 Recepção das amostras no laboratório

- Verificar o preenchimento e a legibilidade de todos os campos do Formulário de Colheita.
- Conferir as informações de identificação: o número constante no frasco deverá corresponder ao número no formulário.
- Manter "livro registro" das amostras recebidas e análises realizadas para trânsito com os respectivos resultados.
- Registrar (*anexo 7*) e comunicar ao SSA/DF/AMAPA de origem as "não conformidades encontradas".

3 Laboratórios autorizados a realizar análises para trânsito

- Laboratório de Vírus de Bovídeos - Instituto Biológico de São Paulo-LVB/IBSP/SP - (inclusive para exportação)
Endereço: Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252
Vila Mariana
CEP: 04014-002 - São Paulo, SP
Fone/Fax: (11) 5087-1786 ou 5087-1765
e-mail: pituco@biologico.sp.gov.br
Técnico Responsável: Edviges Maristela Pituco
- Laboratório de Saúde Animal - Instituto Mineiro de Agropecuária - LASA/IMA/MG
Endereço: Av. do Contorno, 1707 "A" - Bairro Floresta
CEP: 30110-070 - Belo Horizonte, MG
Fone (31) 3213-8200 - Fax: (31) 3213-4263
e-mail: laboratorioanimalima@ig.com.br
Técnico Responsável: Marilda Ferreira Martins

- Laboratório de Apoio à Saúde Animal - Instituto de Defesa Agropecuária do Estado do Mato Grosso - LASA/INDEA/MT
Endereço: Av. dos Trabalhadores, s/nº - Bairro Planalto
CEP: 78.058-400 - Cuiabá, MT
Fone/Fax: (65) 653-1511 ou 653-5600
e-mail: lasamt@terra.com.br
Técnico Responsável: Rosane Marini Melo

4 Testes Sorológicos utilizados para trânsito

4.1 Bovinos

- Elisa 3 ABC
- EITB
- Sistema Elisa 3 ABC/EITB

4.2 Animais não vacinados e búfalos

- IDGA/VIAA

Bibliografia

1. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD; OFICINA SANITARIA PANAMERICANA; OFICINA REGIONAL DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD; CENTRO PANAMERICANO DE FEBRE AFTOSA. Manual de procedimientos para la atención de un predio donde ocurre Fiebre Aftosa - Serie de manuales técnicos, nº 1, 1974.
2. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD; OFICINA SANITARIA PANAMERICANA; OFICINA REGIONAL DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD; CENTRO PANAMERICANO DE FEBRE AFTOSA; ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. El uso de las pruebas de Antígeno Asociado a la infección por virus (VIA) de la Fiebre Aftosa - Serie de monografías Científicas y Técnicas, nº 6, 1980.
3. Bergmann I.E., Neitzert E.,(2000) Sistema para detección de anticuerpos contra antígenos no capsidales del virus de la Fiebre Aftosa. Centro Panamericano de Febre Aftosa - Serie de manuales didáticos - Nº 16.

ANEXO 1

Lista de material para colheita e remessa das amostras de soro sanguíneo

| N. | Material | Informações e objetivos |
|----|---|--|
| 1 | . Prancheta (tamanho papel ofício) | Suporte dos formulários de colheita (<i>anexo 4</i>). |
| 2 | . Caneta esferográfica ou outra forma de identificação indelével p/rotular os frascos | Preenchimento das etiquetas de identificação e dos formulários empregados (<i>anexos 3 e 4</i>). |
| 3 | . Brincos de identificação, numerados seqüencialmente . Aplicador para brincos | Identificar os animais. |
| 4 | . Tubo de vacutainer de 10 ml . Agulha para vacutainer 0,80 x 25 mm . Adaptador para vacutainer | Esse é o material a ser empregado na colheita do sangue propriamente dita. A quantidade de tubos e agulhas deverá ser de pelo menos o número previsto de animais a serem amostra dos acrescido de 10% como margem de segurança. |
| 5 | . Agulhas descartáveis 40 x 12mm | Deverá ser adquirida uma quantidade de pelo menos 20% em relação ao número previsto de animais. Essa quantidade deverá ser distribuída proporcionalmente às equipes de colheita e tem como objetivo auxiliar e garantir o processo de colheita caso ocorram problemas com o material apresentado no item 01. |
| 6 | . Espadrapo ou etiquetas(rótulos) testados, resistentes à umidade | Confecção dos rótulos para identificação dos tubos de vacutainer, frascos e embalagens das amostras. |
| 7 | . Recipiente (ex. balde) | Preparo das soluções desinfetantes (<i>anexo 2</i>) |
| 8 | . Saco de lixo | Acondicionamento e descarte do material utilizado na colheita |
| 9 | . Estantes para os tubos de vacutainer | Acomodar os tubos de vacutainer durante o dessoramento e o transporte. As estantes poderão ser substituídas por outros suportes, como por exemplo, caixas isotérmicas. |
| 10 | . Centrífuga | Utilizada para centrifugação do sangue, caso necessário. |
| 11 | . Desinfetante a base de ácido cítrico a 0,2% ou carbonato de sódio a 4% . Álcool iodado . Gaze ou algodão . Iodofor . Spray cicatrizante | Empregados nos trabalhos de assepsia e biossegurança durante a colheita dos materiais (assepsia do pescoço), na brincagem dos animais e no preparo das amostras. |
| 12 | . Frasco com vedação (ex. penicilina ou eppendorf). | Acondicionamento dos soros. Devem ser esterilizados e identificados em esparadrapo ou etiqueta similar. Não completar o volume, permitindo a expansão do soro no processo de congelamento. |
| 13 | . Saco plástico 35 cm x 25 cm | Acondicionamento dos frascos de soro, agrupando-os por propriedades, fixando as tampas e isolando-os para evitar o extravasamento. |
| 14 | . Fita adesiva 50 mm x 50 m | Firmar e vedar externamente as embalagens de amostras e as caixas isotérmicas. Fixar o envelope e o endereçamento. |
| 15 | . Caixas isotérmicas | Acondicionamento e transporte das amostras. |
| 16 | . Papel de jornal ou outro | Preenchimento dos espaços vazios amortecendo impactos durante o transporte. |
| 17 | . Envelopes tamanho 27 cm x 36 cm | Encaminhamento da requisição de exame e do formulário de colheita (<i>anexos 3 e 4</i>). Esses documentos deverão ser encaminhados juntamente com as respectivas caixas isotérmicas (amostras de soro). |

Obs.:As equipes de trabalho devem dispor de equipamentos de proteção individual: luvas, botas, macacões, bem como material para contenção dos animais (formiga, cordas...) e para higiene pessoal (toalhas, sabonetes, escovas...).

ANEXO 2

SOLUÇÕES DESINFETANTES

1- Solução de Carbonato de Sódio a 4%

- Preparo: Dissolvem-se 40g de Carbonato de Sódio em 1 litro de água;
- Tempo de contato: mínimo 10 minutos;
- Precauções: Ao aplicar o desinfetante em ambientes fechados recomenda-se uso de botas, luvas e máscaras;
- Limitações: Atua somente quando em solução.

2- Compostos à base de Iodoform

- Preparo: Mistura-se 1 litro de produto em 200 litros de água;
- Tempo de contato: mínimo 10 minutos.

3- Solução de Ácido Cítrico 0,2%

- Preparo: Dissolvem-se 2g de Ácido Cítrico em 1 litro de água;
- Tempo de contato: mínimo 10 minutos.

ANEXO 3

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA
SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL

REQUISIÇÃO DE EXAMES PARA INGRESSO DE ANIMAIS SUSCEPTÍVEIS EM
ZONA LIVRE DE FEBRE AFTOSA AO LABORATÓRIO
Nome do Laboratório: _____

ORIGEM DAS AMOSTRAS DE SORO

PROPRIETÁRIO: _____

PROPRIEDADE: _____

MUNICÍPIO: _____ ESTADO: _____

NÚMERO DE AMOSTRAS: _____ DATA DA SANGRIA: ____ / ____ / ____

ESPÉCIE: BOVINO () BUBALINO () SUÍNO () OUTROS: _____ ()

() Primeira Colheita

() Segunda Colheita

() Terceira Colheita

DESTINO DOS ANIMAIS

PROPRIETÁRIO: _____

PROPRIEDADE: _____

MUNICÍPIO: _____ ESTADO: _____

RESPONSÁVEL PELA COLHEITA: _____

ENDEREÇO: _____

MUNICÍPIO: _____ ESTADO: _____

FONE - PROFISSIONAL: _____ FONE - PARTICULAR: _____

FAX: _____

FONE ORGÃO OFICIAL NO ESTADO (SSA/MAPA): _____

Nº DO DOC. : INFORMAÇÃO DE SOLICITAÇÃO DE IMPORTAÇÃO: _____

OBSERVAÇÕES:

RESPONSÁVEL PELA COLHEITA

ANEXO 5

REQUERIMENTO PARA INGRESSO DE ANIMAIS SUSCEPTÍVEIS À FEBRE AFTOSA NA ZONA LIVRE DE FEBRE AFTOSA COM VACINAÇÃO

Solicito autorização para ingresso em zona livre de febre aftosa com vacinação dos animais a seguir identificados, de acordo com o que estabelece a Instrução Normativa nº 82/03, da Secretaria de Defesa Agropecuária, para o que prestamos as informações que se seguem.

1. CARACTERIZAÇÃO DOS ANIMAIS

Espécie:
Finalidade:
Quantidade:
Identificação individual (Anexo 4):

2. PROCEDÊNCIA

Nome do estabelecimento de procedência:
Localização:
Município:
Fone ():
Estado:
Fax ():

3. DESTINO

Nome do estabelecimento de destino:
Localização:
Município:
Estado:
Meio de transporte: () Rodoviário () Aéreo () Marítimo ()
Local de entrada na Zona Livre:

4. DESTINATÁRIO

Nome do destinatário:
Endereço:
Município:
Estado:
Fone ():
Fax ():

Local e data:
Assinatura do destinatário ou de representante autorizado:

ANEXO 6

AUTORIZAÇÃO PARA O INGRESSO DE ANIMAIS SUSCEPTÍVEIS À FEBRE AFTOSA NA ZONA LIVRE DE FEBRE AFTOSA COM VACINAÇÃO

Nº /

DESTINATÁRIO

Nome:

Endereço:

Município/Estado/Telefone:

CARACTERIZAÇÃO DOS ANIMAIS

Espécie:

Finalidade:

Quantidade:

Identificação individual (Anexo 4):

PROCEDÊNCIA

Estado de procedência:

Nome e endereço do estabelecimento de procedência:

Local de entrada na Zona Livre:

LOCAL DE DESTINO PARA ISOLAMENTO

Estabelecimento:

Localização:

Município/ Estado:

AUTORIZO a entrada no Estadodos animais identificados acima, de acordo com o que estabelece a Instrução Normativa nº 82/03, da Secretaria de Defesa Agropecuária, observado o que se segue:

I - os animais deverão ser encaminhados para o estabelecimento de destino identificado nesta autorização, sob supervisão de veterinário oficial designado para fins de:

isolamento, para observação, pelo período de dias;

realização dos exames laboratoriais requeridos;

II - a presente autorização somente é válida para entrada pelo Local de entrada na Zona Livre indicado acima;

III - esta autorização poderá ser cancelada a qualquer momento caso ocorra alteração da situação sanitária do estabelecimento de procedência ou do Estado de procedência, a critério do Departamento de Defesa Animal.

Local e data

Carimbo e assinatura do emitente

1ª via: Destinatário. 2ª via: Estado de procedência. 3ª via: Local de entrada. 4ª via: Arquivo emitente.

5ª via: Laboratório

