



Instrutivo para coleta, preparo, acondicionamento e remessa ao laboratório de amostras oficiais de CAMARÃO.

Os procedimentos de coleta e remessa de material para diagnóstico laboratorial guardam relação direta com a qualidade do resultado final. Portanto, se o material é coletado, acondicionado ou conservado de maneira incorreta, haverá prejuízo à análise laboratorial, sobretudo na avaliação microscópica, podendo, inclusive, impossibilitar sua consecução, ocasionando prejuízos para o sistema de defesa sanitária de animais aquáticos.

Materiais e equipamentos

Equipamentos de proteção individual (EPIs):

- Macacão e botas de borracha (quando não houver contato direto com a água);
- Jardineira impermeável com bota acoplada (quando houver contato direto com a água);
- Luvas de pesca impermeáveis para manipulação de animais enfermos;
- Óculos de proteção para aproximação e manipulação de animais enfermos;
- Máscara cirúrgica para a realização de necropsia;
- Acessórios para proteção solar (chapéu, protetor solar etc.).

Materiais para a coleta:

- Dispositivos para registro fotográfico e das coordenadas geográficas (exemplos: smartphone e GPS);
- Puçá ou passaguá de pesca pequeno, com malha e diâmetro adequado para o espécime a ser coletado (Dar preferência à utilização dos puçás do próprio estabelecimento aquícola);
- Recipientes impermeáveis para transporte e eutanásia -caixa plástica com tampa de 15-20L - Dar preferência à utilização de recipientes do próprio estabelecimento aquícola;
- Formulário de investigação inicial (FORM-IN) ou complementar (FORM-COM) de doenças de animais aquáticos (anexos V e VI da IN MPA nº 04/2015), para anotação de dados do atendimento.
- Formulário de coleta para procedimentos de vigilância, incluindo testes em processos de importação.

Materiais para o preparo:

- Luvas de procedimento;
- Gelo triturado;
- Pinças anatômicas, pinças dente de rato, tesouras romba/fina, cabo de bisturi, lâminas de bisturi, recipientes para descarte de perfurocortantes e materiais para higienização de material cirúrgico;
- Álcool 70%;
- Sacos plásticos brancos para descarte de material potencialmente infectado.

Materiais para o acondicionamento:

- Tubo Falcon de 50 mL para indivíduos adultos;
- Tubo Falcon de 15 mL para larvas, pós-larvas e juvenis;
- Etanol 95%;
- Lacs numerados;
- Materiais para identificação de amostras (pincel atômico, canetas, lápis, etiquetas, fita adesiva etc.). Para amostras conservadas em etanol, recomenda-se a identificação da embalagem com papel, lápis e fita adesiva para que não haja apagamento das inscrições em caneta ou pincel atômico;
- Para conservação das amostras: As amostras coletadas em etanol 95% podem ser mantidas à temperatura ambiente;



- Arquivos editáveis dos formulários de investigação (FORM-IN e FORM-COM) ou formulário de coleta para preenchimento eletrônico e posterior impressão;
- Caneta e carimbo de identificação do agente público responsável pela coleta de amostras para assinatura dos formulários de investigação oficial;
- Envelopes para proteção e envio dos formulários impressos junto das amostras;
- Fita adesiva para afixar envelopes e fechar caixas;
- Caixa térmica (isopor ou similar impermeável) que comporte a quantidade de amostras coletadas e o material de refrigeração/conservação, caso necessário.

Procedimentos

Verificações para a coleta:

- Verificar com os produtores a disponibilidade de puçás ou passaguás pequenos para a coleta de larvas, pós-larvas (PL), juvenis e adultos.
*Dar preferência à utilização dos puçás do próprio estabelecimento aquícola. Caso contrário, utilizar puçás previamente desinfetados com solução de hipoclorito de sódio (50 mg/L), principalmente entre estabelecimentos;
- Verificar com os produtores a disponibilidade de recipientes para transporte e eutanásia dos animais (Dar preferência à utilização de recipientes do próprio estabelecimento aquícola). Caso contrário, utilizar recipientes previamente desinfetados com solução de hipoclorito de sódio (50 mg/L), principalmente entre estabelecimentos;
- Verificar com os produtores a disponibilidade de gelo triturado para eutanásia de camarões.

Coleta:

- Realizar registro fotográfico das coletas, se possível;
- Não misturar espécies/indivíduos adultos no momento da coleta;
- **Para larviculturas:** Utilizando-se os EPIs adequados, coletar formas jovens de todos os tanques/berçários presentes no estabelecimento aquícola, com o auxílio do puçá ou passaguá pequeno, a fim de se obter **1.500 a 3.000 PL12-PL15**.
Caso o estabelecimento disponha somente PL10, deve-se obter 2.400 a 4.800 unidades;
Observação: **Recomenda-se** otimizar e distribuir a colheita entre os tanques, para evitar concentração ou má distribuição, propondo-se uma **amostragem aleatória proporcional ao total da produção entre os tanques existentes**.

Deve-se dar preferência a animais com sinais clínicos, moribundos (letárgicos ou depositados no fundo dos berçários), mortos sem sinais de deterioração ou de tanques com presença ou histórico de mortalidade.

- **Para estabelecimentos de engorda:** Utilizando-se os EPIs adequados, coletar indivíduos adultos de todos os tanques presentes no estabelecimento aquícola, com o auxílio do puçá ou passaguá pequeno, a fim de se obter um **total de 30 animais**;
- Observação: **Recomenda-se** otimizar e distribuir a colheita entre os tanques, para evitar concentração ou má distribuição, propondo-se uma **amostragem aleatória proporcional ao total da produção entre os tanques existentes**;

Deve-se dar preferência a animais com alterações comportamentais, manifestação de sinais clínicos, moribundos (letárgicos e próximos à superfície), mortos sem sinais de deterioração ou de tanques com presença ou histórico de mortalidade.

- **Para coletas de vigilância ativa/importação:** Utilizando-se os EPIs adequados, obedecer a amostragem determinada no plano de vigilância ou requisito sanitário de importação;
- Registrar as coordenadas do estabelecimento aquícola e dados nos formulários para posterior preenchimento eletrônico;
- Transportar os animais para área de preparação das amostras.

Preparo

- Realizar registros fotográficos, se possível;



- Proceder com a eutanásia dos animais por hipotermia colocando-os em caixa isotérmica contendo camada de gelo triturado;
- **No caso de larvas e pós-larvas, manter os indivíduos inteiros;**
- **No caso de adultos e juvenis maiores, deve-se dividi-los em duas partes, por meio de uma secção transversal no abdômen.** Os dois seguimentos obtidos devem ser colocados no interior do mesmo tubo de acondicionamento;
- Animais adultos maiores devem ser seccionados e encaminhados em um mesmo tubo de acondicionamento. Caso não caiba em um mesmo tubo falcon de 50mL, pode-se colocar em mais de um tubo desde que devidamente identificado como sendo do mesmo animal. Outra opção é colocar em frasco de maior volume, desde que de primeiro uso e com tampa de boa vedação.
- No caso de animais com elevado valor zootécnico (reprodutores) a coleta de hemolinfa, pleópodes e brânquias (**Figura 1**) pode ser uma alternativa, dependendo da doença suspeita e do método de análise laboratorial requerido. O laboratório deve ser previamente consultado acerca desta possibilidade.
- Higienizar e desinfetar com solução de hipoclorito de sódio (50 mg/L) os materiais cirúrgicos utilizados, em seguida enxaguar com álcool 70%;
- Descartar as carcaças e restante dos órgãos em sacos plásticos brancos identificados como material potencialmente infectante, fechar bem e destinar ao lixo hospitalar;
- Descartar o gelo utilizado nos procedimentos de eutanásia, necropsia e higienização de material cirúrgico em rede de tratamento de esgoto, fossa séptica devidamente impermeabilizada ou solo de maneira a não atingir lençóis freáticos ou outros corpos d'água; Caso a água de descarte não possa ser descartada conforme disposto acima, deve-se realizar o tratamento da água com hipoclorito de sódio (50 mg/L).

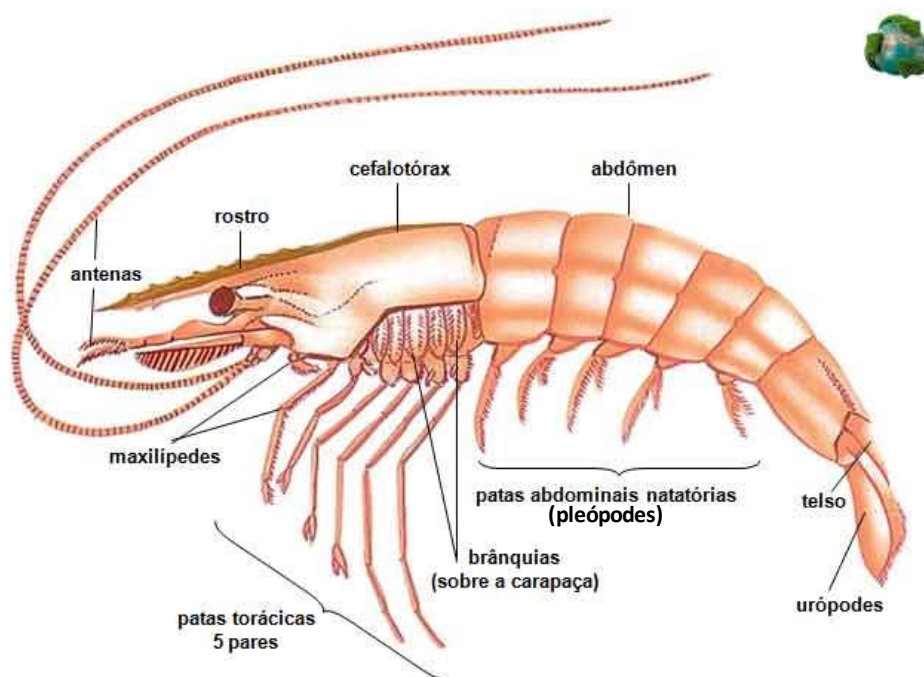


Figura 1: Anatomia básica de camarão

Fonte: Adaptado de <https://www.mundoecologia.com.br/animais/anatomia-do-camarao-morfologia-e-nome-cientifico/>

Acondicionamento:

- Realizar registros fotográficos, se possível;
- No caso de larvas e pós-larvas um pool de até 60 indivíduos inteiros do mesmo tanque/lote, pode ser colocado no interior de um único tubo Falcon de 15 mL;
- No caso de adultos e juvenis maiores, um único indivíduo deve ser colocado no interior de um tubo Falcon de 50 mL (adultos) ou de um tubo de 15 mL (juvenis);



- Ao colocar a amostra no tubo, adicionar etanol 95% até preencher 90% do volume máximo do recipiente. Deve-se obedecer a proporção de uma parte de amostra para nove de fixador;
- Identificar cada tubo Falcon com etiqueta do tipo papel, preenchida a lápis e fixada na superfície externa do frasco com fita adesiva; Não deve ser usada inscrição com pincel anatômico diretamente no tubo, pois poderá ocorrer perda da identificação devido a um possível vazamento de álcool;
- Inserir os tubos Falcon em um saco plástico (embalagem secundária), amarrar bem e lacrar. O lacre deve transpassar as camadas do plástico para que não deslize (Figura 2);



Figura 2: Embalagem secundária amarrada e lacrada

- Identificar, com pincel atômico, a embalagem secundária, descrevendo-se a espécie, município, UF e número do FORM-IN para facilitar a organização;
- Preencher eletronicamente, imprimir, assinar, carimbar e digitalizar os formulários de investigação oficial;
- Acondicionar o material em uma caixa isotérmica. Não é necessário refrigeração;
- Inserir uma cópia do formulário de investigação (FORM-IN/FORM-COM) ou formulário de coleta no envelope e afixar com fita adesiva na parte externa da caixa térmica;
- Comunicar previamente o laboratório de destino antes do envio da amostra;
- Enviar as cópias digitalizadas dos formulários de investigação aos pontos focais de epidemiologia e de sanidade de animais aquáticos no OESA e SFA, ao DSA (sanidade.aquaticos@agro.gov.br) e ao e-mail de notificação do DSA (notifica.dsa@agro.gov.br);
- Enviar os registros fotográficos para o e-mail sanidade.aquaticos@agro.gov.br.

Relação de ensaios para patógenos que o LFDA-GO está apto a realizar

- White spot syndrome virus - WSSV;
- Decapod penstyldensovirus 1 - PstDV1 (Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus - IHNV);
- Taura syndrome virus - TSV;
- Yellow head virus - YHV (Doença da cabeça amarela);
- Hepatobacter penaei (Hepatopancreatite necrosante - NHPB);
- Vibrio parahaemolyticus - Vp AHPND (Síndrome da Necrose Hepatopancreática Aguda - AHPND);
- Enterocytozoon hepatopenaei - EHP;
- Decapod iridescent virus 1 - DIV1 (Shrimp hemocyte iridescent virus - SHIV);
- Infectious myonecrosis virus - IMNV;
- Hepatopancreatic parvovirus - HPV (Parvovirose hepatopancreática)
- Covert mortality nodavirus - CMNV.

Relação de ensaios para patógenos que o LFDA-PE está apto a realizar

- White spot syndrome virus - WSSV;
- Decapod penstyldensovirus 1 - PstDV1 (Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus - IHNV);
- Yellow head virus - YHV (Doença da cabeça amarela);



- *Hepatobacter penaei* (Hepatopancreatite necrosante - NHPB);
- *Vibrio parahaemolyticus* - Vp AHPND (Síndrome da Necrose Hepatopancreática Aguda - AHPND);
- Infectious myonecrosis virus - IMNV;

Remessa

Laboratório oficial do Mapa para diagnóstico de doenças de camarão

LABORATÓRIO FEDERAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA EM GOIÂNIA - LFDA-GO

Rua da Divisa, s/n, Setor Jaó, Unidade DVB

Goiânia – GO, CEP: 74674-015

CNPJ: 00.396.895/0073-08

Telefone: (62) 3232-7200

coord.lfda-go@agro.gov.br

LABORATÓRIO FEDERAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA EM PERNAMBUCO - LFDA-PE

Rua Manoel de Medeiros, s/nº - Dois Irmãos

Recife – PE, CEP: 52171-030

CNPJ: 00.396.895/0071-38

Telefone: (81) 3231-9050; 3231-9500; 3231-9750

E-mail: lanagro.gab.pe@agro.gov.br

Referências

MAPA. LFDA/MG. Instrução de serviço – IS/LPV/PL/016-v3. Coleta, conservação e remessa de amostras para diagnóstico histopatológico. 2019.

MPA. Manual de Coleta e Remessa de Amostras para Diagnóstico de Enfermidades de Animais Aquáticos na Rede Nacional de Laboratórios do Ministério da Pesca e Aquicultura – RENAQUA. 2013.