



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO) REALIZADO
NO LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO ANIMAL LTDA (LADA) E NO
LABORATÓRIO DE DOENÇAS PARASITÁRIAS (DMV-UFRPE), RECIFE-PE

NATÁLIA BERNARDI VARGAS

RECIFE

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO) REALIZADO
NO LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO ANIMAL LTDA (LADA) E NO
LABORATÓRIO DE DOENÇAS PARASITÁRIAS (DMV-UFRPE), RECIFE-PE

Relatório de Estágio apresentado à Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), como exigência parcial para obtenção do grau de Bacharel em Medicina Veterinária, sob a orientação da Prof^a. Dra. Mércia Rodrigues Barros.

RECIFE
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

V297r Vargas, Natália Bernardi.
Relatório do estágio supervisionado obrigatório (ESO)
realizado no Laboratório de Diagnóstico Animal LTDA (LADA) e no
Laboratório de Doenças Parasitárias (DMV-UFRPE), Recife-PE /
Natália Bernardi Vargas. – Recife, 2018.
46 f.: il.

Orientador (a): Mércia Rodrigues Barros.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina
Veterinária, Recife, BR-PE, 2018.

Inclui referências.

1. Avicultura 2. Análises laboratoriais 3. Prevenção
4. Diagnóstico 5. Sanidade I. Barros, Mércia Rodrigues, orient.
II. Título

CDD 636.089



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO) REALIZADO NO
LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO ANIMAL LTDA (LADA) E NO LABORATÓRIO DE DOENÇAS
PARASITÁRIAS (DMV-UFRPE), RECIFE-PE**
Relatório elaborado por **Natália Bernardi Vargas**

Aprovado em __/__/2018

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Mércia Rodrigues Barros (Orientadora)
Departamento de Medicina Veterinária (UFRPE)

Profa. Dra. Andrea Paiva Botelho Lapenda de Moura
Departamento de Medicina Veterinária (UFRPE)

Maria Vanuza Nunes de Meireles
Médica Veterinária



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
COORDENAÇÃO DO CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA
ESO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATORIO (08525)

FICHA DE AVALIAÇÃO DO SUPERVISOR

I) IDENTIFICAÇÃO DA CONCEDENTE (INSTITUIÇÃO OU EMPRESA DE REALIZAÇÃO DO ESO)
NOME LADA - LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO ANIMAL FONE: (81) 3037-2902
ENDEREÇO RUA CARATINGA - 25
E-MAIL lada.laboratorio@gmail.com SITE
RESPONSÁVEL Simone Maria de Oliveira Vilela
CARGO/FUNÇÃO MÉDICA VETERINÁRIA - PROPRIETÁRIA

II) IDENTIFICAÇÃO DO ALUNO
NOME NATÁLIA BERNARDI VARELA CPF: 016568680-40
ÁREA DO ESO AVICULTURA

III) IDENTIFICAÇÃO DO SUPERVISOR
NOME SIMONE MARIA DE OLIVEIRA VILELA
FONE: (81) 99994-5788 E-MAIL simonevilela@gmail.com
CARGO/FUNÇÃO MÉDICA VETERINÁRIA - PROPRIETÁRIA
Nº REGISTRO PROFISSIONAL: CRMV-PE 1984

IV) AVALIAÇÃO DO SUPERVISOR
ASSIDUIDADE: A GRAU DE APLICAÇÃO: A
HORAS DE ATIVIDADES: A CONCEITO: A
CONCEITOS: A = Excelente B = Bom C = Regular D = Insuficiente

TÍTULO DO TRABALHO DESENVOLVIDO:
RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATORIO (ESO) REALIZADO NO LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO ANIMAL LTDA (LADA) E NO LABORATÓRIO DE DOENÇAS PARASITÁRIAS (DMU - UFRPE), RECIFE - PE.

Período Realização do ESO: 03 / 05 / 2018 A 15 / 06 / 2018

RECIFE, 19 de JUNHO de 2018.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
COORDENAÇÃO DO CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA
ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATORIO (OSB25)

ESO

FICHA DE AVALIAÇÃO DO SUPERVISOR

II IDENTIFICAÇÃO DA CONCEDENTE (INSTITUIÇÃO OU EMPRESA DE REALIZAÇÃO DO ESO)

NOME LABORATÓRIO DE TÉCNICAS PARASITÁRIAS S/N 380 6423

ENDEREÇO R. DOM MANOEL DE MEDEIROS S/N

E-MAIL - SITE

RESPONSÁVEL MARIA APARECIDA DA GLÓRIA FAUSTINO

CARGO/FUNÇÃO COORDENADORA/PROFESSORA

III IDENTIFICAÇÃO DO ALUNO

NOME NATÁLIA BERNARDI VARGAS CPF 016565680-40

ÁREA DO ESO AVICULTURA

III IDENTIFICAÇÃO DO SUPERVISOR

NOME MARIA APARECIDA DA GLÓRIA FAUSTINO

FONE 81 986632665 E-MAIL magfaustino@hotmail.com

CARGO/FUNÇÃO PROFESSORA

Nº REGISTRO PROFISSIONAL CRMV PE Nº 3263

IV) AVALIAÇÃO DO SUPERVISOR

ASSIDUIDADE	A	GRAU DE APLICAÇÃO	A
HORAS DE ATIVIDADES	A	CONCEITO	A

CONCEITOS: A = Excelente B = Bom C = Regular D = Insuficiente

TÍTULO DO TRABALHO DESENVOLVIDO

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATORIO (ESO) REALIZADO NO LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO ANIMAL LIDA (LIDA) E NO LABORATÓRIO DE TÉCNICAS PARASITÁRIAS (DAN - UFRPE), RECIFE - PE.

Período Realização do ESO 13/06/2018 A 23/07/2018

RECIFE - PE 13 de AGOSTO de 2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe por me incentivar a seguir em frente, apoiar meus sonhos e por sonhar junto comigo. Minha gratidão é imensurável e eterna.

Ao meu pai por ensinar muito sobre a vida.

Agradeço imensamente à Prof^ª. Dra. Andrea Paiva, ao Prof. Dr. Fernando Leandro e ao Lucas Pereira que sempre me foram muito solícitos, atenciosos e auxiliaram da melhor maneira possível enquanto coordenação de curso. Meu carinho e gratidão.

Aos companheiros de jornada Angella Roberta, Célia Fernanda e Gleice Érica pela força nos momentos difíceis. Com absoluta certeza vocês fizeram essa caminhada muito melhor e serei eternamente grata pelo companheirismo, aprendizado e carinho. Tenho vocês no meu coração.

A todos os galerosos, em especial à Amanda de Deus, Sandra Maria, Pedro Paulo, Órion Pedro, Saulo Félix, Mariana Barretto, Rômulo Dias, Melina Barreto, Emanuela Mesquita, Ana Paula, Muriel, Matheus, Ebla, Almir, muito obrigada pelos momentos de aprendizado, nesta área tão linda que é a Patologia Animal!

Agradeço à minha orientadora Prof^ª. Dra. Mércia Rodrigues pela paciência e dedicação assim como à todos os professores da Área de Patologia do DMV-UFRPE: Prof^ª. Dra. Andrea Alice, Prof^ª. Dra. Márcia Pereira, Prof. Dr. Fernando Leandro, Prof. Dr. Valdemiro Júnior pelos ensinamentos profissionais, acadêmicos e por sempre estarem por perto e dispostos a ajudar. Meu respeito, carinho e gratidão!

Agradeço à Prof^ª. Dra. Maria Betânia pelo incentivo, ainda mais na reta final do curso. Muito obrigada!

À Dra. Sineide Vilela pela oportunidade de aprender no Lada Laboratório de Diagnóstico Animal LTDA. Os ensinamentos da Médica Veterinária Saruanna Millena, uma pessoa maravilhosa! Sou muito grata por ter podido conviver e aprender contigo!

À toda equipe da Ovo Novo e ao Sr. Josimario Florêncio pela oportunidade.

Agradeço à Prof^ª. Dra Maria Aparecida do Laboratório de Doenças Parasitárias da UFRPE sua equipe e, em especial, às residentes Maria Vanuza e Thalita Nayara pela oportunidade de aprender, pelo empenho e pela dedicação em ensinar. Sou grata por ter podido aprender com vocês!

Ao Thiago que além de companheiro de jornada acadêmica é o amor da minha vida. Tenho sorte. Gratidão por todos os ensinamentos. Talvez não saibas o quanto aprendi, aprendo e pretendo continuar a aprender contigo.

À todos que fizeram parte da minha jornada nesta graduação e, de uma forma ou outra, me incentivaram a aprender! Gratidão!

Dedico ao Bobby (*in memoriam*), Cenira (*in memoriam*), Preta (*in memoriam*), Zezé,
Perônio, Amora, Molly, Muttley, Teela e Sandino.

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho de conclusão de curso relatar as vivências no Laboratório de Diagnóstico Animal LTDA (LADA) no período de 08 de maio a 15 de junho de 2018 e no Laboratório de Doenças Parasitárias (DMV-UFRPE) no período de 18 de junho a 23 de julho de 2018 correspondentes ao Estágio Supervisionado Obrigatório-ESO (Disciplina 08525- Estágio Supervisionado Obrigatório do Curso de Bacharelado em Medicina Veterinária) correlacionando com os aprendizados adquiridos ao longo da disciplina de Ornitopatologia Veterinária assim como do curso de Medicina Veterinária, ressaltando a importância das análises laboratoriais para a sanidade animal. As atividades técnicas desenvolvidas no LADA consistiram em acompanhar e executar as análises microbiológicas, micológicas e sorológicas relacionadas à prevenção e diagnóstico laboratorial para possíveis patógenos presentes na cadeia produtiva avícola visando a sanidade animal e humana. As atividades técnicas desenvolvidas no Laboratório de Doenças Parasitárias consistiram em acompanhar e executar os exames diagnósticos denominados pesquisa de hematozoários, pesquisa de microfilárias, exame coproparasitológico, identificação de endoparasitos, identificação de ectoparasitos e pesquisa de *Leishmania* spp, voltado principalmente para os animais de companhia, mas contemplando também a sanidade dos animais de produção. Ambas as atividades proporcionaram conhecimentos acerca de análises laboratoriais que colaboram para o diagnóstico, prevenção e sanidade animal.

Palavras chave: avicultura, análises laboratoriais, prevenção, diagnóstico, sanidade.

ABSTRACT

The objective of this work was to report the experiences in the Laboratory of Animal Diagnosis LTDA (LADA) from May 8 to June 15, 2018 and at the Laboratory of Parasitic Diseases (DMV-UFRPE) in the period of 18 June to July 23, 2018 corresponding to the Mandatory Supervised Internship-ESO (Discipline 08525 - Compulsory Supervised Internship of the Bachelor's Degree in Veterinary Medicine) correlating with the acquired learning along the Veterinary Ornithology course as well as the Veterinary Medicine course, emphasizing the importance of laboratory tests for animal health. The technical activities developed in the LADA consisted of monitoring and performing the microbiological, mycological and serological analyzes related to laboratory prevention and diagnosis for possible pathogens present in the poultry production chain, aiming at animal and human health. The technical activities developed at the Laboratory of Parasitic Diseases consisted of monitoring and performing the diagnostic tests called hematozoa research, microfilariae research, coproparasitological examination, identification of endoparasites, identification of ectoparasites and research of *Leishmania* spp, aimed mainly at the animals of company, but also contemplating the sanity of production animals. Both activities provided knowledge about laboratory analyzes that collaborate for diagnosis, prevention and animal health.

Key words: poultry, laboratory analysis, prevention, diagnosis, sanity.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHI	Infusão de cérebro e coração
BPA	Boas Práticas Agropecuárias
DMV	Departamento de Medicina Veterinária
DTA	Doenças transmitidas por alimentos
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
EPI	Equipamento de Proteção Individual
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FOA	Farinha de Origem Animal
HI	Inibição da Hemaglutinação
LADA	Laboratório de Diagnóstico Animal
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MG	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>
MS	<i>Mycoplasma synoviae</i>
NMP	Número Mais Provável
SAR	Soroaglutinação Rápida em placa
SFP	Ágar Sahid Ferguson Perfringens
TSI	Meio Triplo Açúcar Ferro
UFC	Unidade formadora de colônia
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
XLD	Ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1. Tipos de exames, métodos empregados e quantidade de amostras.....	26
QUADRO 2. Tipos de exames, técnicas empregadas e quantidade de amostras.....	31

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. TESTE DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO	27
FIGURA 2. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA EM FOA'S E RAÇÕES.....	29
FIGURA 3. COLÔNIAS DE <i>CLOSTRIDIUM PERFRINGENS</i> EM ÁGAR SFP.....	29
FIGURA 4. CONFECÇÃO DE ESTIRAÇO PARA PESQUISA DE HEMATOZOÁRIOS.....	32
FIGURA 5. CONFECÇÃO DE KNOTT MODIFICADO PARA PESQUISA DE MICROFILÁRIAS	33
FIGURA 6. REALIZAÇÃO DA TÉCNICA DE FLOTAC.....	34
FIGURA 7. REALIZAÇÃO TESTE RÁPIDO PARA <i>LEISHMANIA SPP</i>	35

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Avicultura.....	17
2.1.1 Exames laboratoriais na avicultura.....	19
2.1.2 Análises sorológicas.....	19
2.1.3 Análises microbiológicas	20
2.2 Animais de Companhia no Brasil.....	21
2.2.1 Exames laboratoriais para animais de companhia	21
2.2.2 Exames diretos.....	22
2.2.3 Teste de triagem para <i>Leishmania</i> spp.....	22
3. DESCRIÇÃO DOS LOCAIS DE ESTÁGIO	23
3.1 Laboratório de Diagnóstico Animal LTDA (LADA)	23
3.2 Laboratório de Doenças Parasitárias (DMV-UFRPE).....	24
4. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DO ESTÁGIO	26
4.1 Atividades acompanhadas no Laboratório de Diagnóstico Animal	26
4.1.1 Análise sorológica.....	26
4.1.2 Pesquisa de Micotoxinas.....	28
4.1.3 Análise Microbiológica em Farinhas de Origem Animal e Rações.....	28
4.1.4 Análise Microbiológica em Água	30
4.1.5 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp em ovos.....	30
4.1.6 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp em materiais biológicos	30
4.1.7 Suabe de superfície	30
4.1.8 Cultura e identificação Bacteriana.....	31
4.1.9 Pesquisa de Fungos.....	31
4.2 Atividades acompanhadas no Laboratório de Doenças Parasitárias.....	31
4.2.1 Pesquisa de Hematozoários	31
4.2.2 Pesquisa de Microfilárias.....	32
4.2.3 Exame Coproparasitológico.....	33
4.2.4 Identificação de Endoparasitos	34
4.2.5 Identificação de Ectoparasitos	34
4.2.6 Teste de triagem para <i>Leishmania</i> spp.....	34
4.2.7 Pesquisa de <i>Leishmania</i> spp	35
5. DISCUSSÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	35
5.1 Discussão das atividades desenvolvidas no LADA.....	35
5.1.1 Análise Sorológica.....	35
5.1.2 Pesquisa de Micotoxinas.....	36
5.1.3 Análise Microbiológica em Farinhas de Origem Animal e Rações.....	36
5.1.4 Análise Microbiológica em Água	37
5.1.5 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp em ovos.....	37

5.1.6 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp em materiais biológicos	37
5.1.7 Suabe de superfície	38
5.1.8 Cultura e identificação Bacteriana	38
5.1.9 Pesquisa de Fungos	38
5.2 Discussão das atividades desenvolvidas no Laboratório de Doenças Parasitárias	39
5.2.1 Pesquisa de Hematozoários	39
5.2.2 Pesquisa de Microfilárias	39
5.2.3 Exame Coproparasitológico	39
5.2.4 Identificação de Endoparasitos	40
5.2.5 Identificação de Ectoparasitos	40
5.2.6 Teste de triagem para <i>Leishmania</i> spp	40
5.2.7 Pesquisa de <i>Leishmania</i> spp	41
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
REFERÊNCIAS	41

1. INTRODUÇÃO

O momento do Estágio Supervisionado Obrigatório é importante para a associação dos conteúdos aprendidos durante a graduação e a prática profissional do Médico Veterinário. O estágio serve como forma de experimentação para o aluno, que executando as atividades propostas, permite sua assimilação e confere segurança ao mesmo que neste momento encontra-se na transição entre estudante e profissional qualificado para o mercado.

Os exames laboratoriais são ferramentas fundamentais para a prática da Medicina Veterinária, independentemente do campo de atuação do profissional. Os exames servem de subsídio para associação entre o exame clínico, dados epidemiológicos, o que em conjunto permitem um direcionamento, auxílio ou mesmo a conclusão diagnóstica. Seja na Medicina Veterinária voltada para animais de produção ou para as atividades relativas à clínica de pequenos animais, a finalidade é o bem-estar e a sanidade animal.

Objetivou-se com este trabalho relatar as vivências no Laboratório de Diagnóstico Animal LTDA (LADA) e no Laboratório de Doenças Parasitárias (DMV-UFRPE) correspondentes ao Estágio Supervisionado Obrigatório (Disciplina 08525- Estágio Supervisionado Obrigatório do Curso de Bacharelado em Medicina Veterinária) correlacionando com os aprendizados adquiridos ao longo da disciplina de Ornitopatologia Veterinária assim como do curso de Bacharelado em Medicina Veterinária-UFRPE.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Avicultura

O Brasil possui uma cadeia produtiva de aves bastante diversificada e complexa formada por diversas empresas distribuídas nos setores de produção, industrialização e comercialização. A produção de frangos de corte é uma das cadeias mais importantes para o agronegócio nacional (BASSI; SILVA, 2014). Em 2017 o país ocupou o segundo lugar em produção mundial de carne de frango produzindo 13,1 milhões de toneladas, das quais 4,32 milhões de toneladas foram exportadas (1º lugar no ranking mundial) o que corresponde, respectivamente a 14,5% e 34,8% do total mundial (USDA, 2018).

Trata-se de um setor produtivo de alta competitividade que cresce em conjunto com as inovações tecnológicas (avanços em genética, nutrição, sanidade e manejo) e investimentos em programas de monitoramento e prevenção de enfermidades. O uso de métodos de controle de qualidade já é rotina para as empresas avícolas brasileiras as quais buscam um rigoroso padrão de qualidade que se reflita na escolha do produto pelo consumidor e nas conquistas de novos mercados nacionais e internacionais (SALLE; MORAES, 2009). Atualmente o Brasil exporta

carne de frango para mais de 150 mercados mundiais (ABPA, 2018). O país se destaca mundialmente, superando as barreiras que o comércio mundial lhe impõe (VAZ; JAENISCH, 2011). A boa condição sanitária foi fundamental para o desenvolvimento da avicultura no Brasil, refletindo no aumento do consumo interno de carne de frango e na ampliação das exportações do produto, porém o controle e a prevenção de microrganismos causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTA) são desafios permanentes no setor avícola (VAZ; JAENISCH, 2011).

No ano de 2006 a União Europeia banuiu o uso de promotores de crescimento na alimentação de frangos, obrigando a cadeia produtiva brasileira a se adequar ao novo cenário para manter os acordos comerciais (FARIA et al, 2009). O *Codex Alimentarius* estabelece normas internacionais na área de alimentos, incluindo padrões, diretrizes e guias sobre Boas Práticas e de Avaliação de Segurança e Eficácia, estabelece os valores máximos para os resíduos de substâncias químicas em alimentos visando à proteção da saúde do consumidor e a manutenção das relações de comércio entre os países, atualmente 189 países são membros (BRASIL, 2018). Assim, o uso de antimicrobianos e substâncias que promovem risco de contaminação, deve ficar restrito aos parâmetros do Codex, ressaltando-se importância da utilização de metodologias laboratoriais cada vez mais sensíveis e específicas que contribuam para o alcance do objetivo zero risco (CERUTTI, 2009).

O próprio formato de sistema de produção favorece a rápida disseminação de patógenos (SALLE; MORAES, 2009). Mesmo com os crescentes esforços para manter a higidez e produtividade na cadeia produtiva avícola, existem muitas doenças que podem acometer as aves, independentemente de causar maiores ou menores perdas econômicas e algumas são: Anemia Infecciosa das Galinhas, Aspergilose, Bouda Aviária, Bronquite Infecciosa das Galinhas, Enterite Necrótica, Botulismo, Coccidiose, Infecções por *Escherichia coli*, Coriza Infecciosa, Doença de Gumboro, Doença de Marek, Doença de NewCastle, Ectoparasitoses, Encefalomielite Aviária, Enfermidades Metabólicas, Enfermidades Nutricionais, Influenza Aviária, Leucose Aviária, Micoplasmose, Micotoxicose, Pneumovirose Aviária, Salmoneloses e Síndrome da Queda de Postura (BERCHIERI et al., 2009). Estas injúrias estão envolvidas (direta ou indiretamente) em grandes prejuízos econômicos na avicultura, por exemplo: micotoxicoses (BOCHIO et al., 2017; MALLMANN et al., 2009), *Escherichia coli* (BORZI et al., 2015), enfermidades que causam condenação de carcaças em abatedouros durante a inspeção federal *post mortem* pelo aspecto repugnante (FERREIRA et al., 2012), coccidiose (SILVA; ZOCHE, 2009).

2.1.1 Exames laboratoriais na Avicultura

Os exames laboratoriais na avicultura têm por finalidade confirmar, estabelecer ou complementar o diagnóstico, subsidiar o prognóstico de enfermidades e o monitoramento das mesmas (CARDOSO; TESSARI, 2015). Os resultados de exames associados à epidemiologia e aos sinais clínicos contribuem para chegar à etiologia e para a adoção de medidas sanitárias adequadas (FÁBIO; ROSSINI, 2009). A avicultura é uma atividade em que qualquer problema de ordem sanitária causa grandes prejuízos, portanto as empresas trabalham com a prevenção e a monitoria sorológica permite avaliar o *status* sanitário dos lotes, os desafios sanitários e a eficiência dos programas de vacinação. A monitoria sorológica demonstra o histórico sanitário dos animais, permitindo a correção caso haja algum desafio (CASTRO, 2014).

Diversas análises laboratoriais podem ser realizadas a partir de coletas de materiais (aves, fragmentos de órgãos ou tecidos, suabe, sangue, soro, penas, água, ovos, cama, placas para controle microbiológico de incubação, matérias-primas, ração, desinfetantes, vacinas e diluentes) a campo, dentre elas a sematologia, parasitologia, isolamento bacteriano, isolamento fúngico, isolamento viral, anatomopatológico, sorologia. As amostras podem ser utilizadas para diferentes testes conforme a suspeita de doença ou o monitoramento que se desejar realizar. Deve-se respeitar a forma de coleta e os materiais relativos à suspeita, armazenamento e prazos de envio para o laboratório. E as amostras devem ser acompanhadas de informações de identificação (FÁBIO; ROSSINI, 2009).

2.1.2 Análises sorológicas

A sorologia é uma ferramenta importante para um programa de medicina preventiva, monitorando o programa vacinal e avaliando a presença de anticorpos maternos, detectando enfermidades nas aves. Ela demonstra um padrão de títulos alcançados podendo apontar falhas relativas ao programa vacinal (FÁBIO; ROSSINI, 2009).

A Soroaglutinação Rápida em Placa (SAR) consiste em um teste sorológico capaz de diagnosticar as mínimas quantidades de anticorpos das amostras, pois trata-se de uma prova de alta sensibilidade que almeja não apresentar nenhuma amostra falso-negativa, porém podem ser mostrados resultados falso-positivos em amostras negativas. É um teste de triagem para diagnóstico de *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e *Mycoplasma synoviae* (MS). Consiste na reação de antígenos (corados ou não) que em contato com os anticorpos da amostra positiva formará grumos (CARDOSO, 2009).

O Teste de Inibição da Hemaglutinação (HI) é uma técnica sorológica quali-quantitativa (os títulos de anticorpos podem ser medidos e são expressos na máxima diluição em que os anticorpos foram detectados), sensível e específica capaz de medir principalmente a IgG

(ROSSINI; FÁBIO, 2009). Seu princípio é a titulação de anticorpos que inibem da hemaglutinação causada por alguns vírus e bactéria, respectivamente, tais como NDV, Influenza Aviária, BIG, EDS e Coriza Infecciosa (CARDOSO, 2009).

O Ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) detecta anticorpos e antígenos permitindo verificar níveis mais baixos de anticorpos. São testes considerados sensíveis e específicos (ROSSINI; FÁBIO, 2009). A metodologia do teste facilita o monitoramento e, em alguns casos, o diagnóstico. Existem muitos kits comerciais para quase todas as doenças aviárias importantes na indústria obtendo bons resultados (CARDOSO, 2008).

2.1.3 Análises microbiológicas

Os métodos microbiológicos são amplamente utilizados na avicultura, servindo para avaliar a qualitativa e quantitativamente amostras de diversos materiais. Consistem, basicamente, na criação de um ambiente propício, através de meios de enriquecimento seletivos ou não, para o desenvolvimento e posterior identificação dos microrganismos contaminantes da amostra.

A verificação da presença de contaminantes de FOAS e rações por *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* e *Salmonella spp*. O diagnóstico bacteriológico dos componentes é feito através de cultivo e plaqueamento em meio seletivo de acordo com a IN n° 62 (BRASIL, 2003) e IN n° 34 (BRASIL, 2008).

A mesma técnica supracitada é empregada para o suabe de superfície. É um dos métodos utilizados para monitoria e avaliação da efetividade do processo de limpeza e desinfecção (presença de *E. coli* ou contagem total de microrganismos). A limpeza e desinfecção da instalação objetiva prevenir os efeitos das doenças na produtividade das aves (KUANA, 2009).

A análise microbiológica da água é também realizada de acordo com a IN n° 62 (BRASIL, 2003) pela técnica do NMP que consistem em verificar a presença de coliformes totais e termotolerantes.

Para a pesquisa de *Salmonella spp* em ovos comerciais o princípio consiste na realização das etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo e isolamento de colônias em meio sólido seletivo, conforme metodologia descrita na IN n°62 (BRASIL, 2003). Esta mesma técnica é utilizada para a pesquisa de *Salmonella spp* em materiais biológicos, contudo, visa-se com este exame avaliar a presença do agente no plantel. Esta pesquisa pode ser utilizada para diagnóstico de salmoneloses (Pulrose, Tifo Aviário, Paratifo Aviário, Arizonose). Além de causar prejuízos econômicos devido às perdas de plantel (BERCHIERI; NETO, 2009).

O método microbiológico tradicional, utilizando-se meio seletivo para fungos é utilizado para pesquisa em rações e milho das mesmas assim como a cama visando a monitorização destas

matérias-primas. O maior desafio na prevenção é a presença de fungos em todas as fases da produção (CEOLIN, 2012).

2.2 Animais de Companhia no Brasil

A partir da aproximação entre homens e animais ainda na pré-história através da predação e posterior domesticação de algumas espécies. Esta aproximação resultou em benefícios para a espécie humana e desencadeou uma série de alterações na saúde, transmissão de patógenos de importância zoonótica, por exemplo, e na relação entre seres humanos e animais. Atualmente os animais de companhia são considerados membros das famílias, equiparados aos humanos na esfera afetiva (GIUMELLI; SANTOS, 2016). Por consequência, com essa aproximação e com os tutores cada vez mais preocupados com a saúde dos seus animais e em proporcionar a melhor qualidade de vida para os mesmos, cria-se também um setor de mercado cada vez mais importante para a economia (ABINPET, 2018).

Em 2013 o Brasil possuía 52,2 milhões de cães, 37,9 milhões de aves, 22,1 milhões de gatos, 18 milhões de peixes e 2,21 milhões de répteis e pequenos mamíferos como animais de estimação. No mesmo ano, o Brasil ocupava a 4ª posição mundial em número de animais de estimação e o mercado brasileiro ocupou o 3º lugar no faturamento mundial do setor, que incluiu produção de alimentos, produtos, serviços e cuidados médicos. E os serviços veterinários constituem 15,8% do faturamento total do setor brasileiro (ABINPET, 2018).

2.2.1 Exames laboratoriais para animais de companhia

Assim como na medicina humana os exames laboratoriais são cada vez mais especializados na medicina veterinária. O clínico utiliza um conjunto de constatações para solicitar um determinado exame, afim de que o mesmo diagnostique o agente ou o contato do animal com o agente através da pesquisa de anticorpos. Existem dois métodos diagnósticos básicos para a detecção de doenças infecciosas que consistem na detecção do patógeno ou de anticorpos contra o patógeno (LAPIN, 2017). O registro da presença do agente infeccioso através de exames laboratoriais é a melhor maneira de se estabelecer o diagnóstico definitivo, para que o tratamento, prevenção, prognóstico e as zoonoses sejam devidamente encaminhados pelo clínico (LAPPIN, 2015).

Para a detecção do patógeno pode-se utilizar o exame de fezes, citologia, técnicas teciduais (histopatologia), de cultivo e imunológicas, como a detecção de anticorpos. Se utiliza métodos sorológicos que consistem na verificação dos diferentes tipos de anticorpos para os organismos pesquisados e o diagnóstico molecular (LAPPIN, 2017).

2.2.2 Exames diretos

Consistem na detecção do patógeno por meio de identificação visual após preparo das amostras e visualização ao microscópio. Para a pesquisa de hematozoários o esfregaço sanguíneo é uma ferramenta importante para a avaliação de anormalidades patológicas envolvendo leucócitos, eritrócitos e plaquetas. Seu sucesso depende da utilização de um processamento adequado que propicie uma camada simples de células dispersas individualmente e homogeneamente (WEISER, 2015).

O teste de concentração de microfilárias, conhecido como Knott modificado, permite identificar a presença e contagem de microfilárias circulantes, dando uma estimativa da infecção. Para o diagnóstico definitivo os testes para detecção de antígenos são recomendados (WARE, 2015). Enquanto que, para a pesquisa de ectoparasitos a identificação microscópica do agente é o resultado definitivo, podendo ser realizado o raspado profundo de pele ou pressionando-se um pedaço de fita adesiva transparente sobre a pele, e colocando-se esta fita sobre uma lâmina de microscopia (LAPPIN, 2015).

Os exames coproparasitológicos são importantes para auxiliar no diagnóstico de doenças parasitárias do trato gastrointestinal. As técnicas frequentemente utilizadas consistem na diluição e observação direta da amostra (técnica de sedimentação de Hoffman), testes de flutuação (técnica de Willis) (NOVAES; MARTINS, 2015). E também, o método FLOTAC que se baseia na flutuação e centrifugação, que permite uma melhor visibilidade dos parasitos à leitura, uma vez que as sujidades ficam retidas em área diferente do local onde se faz a leitura. Após o preparo, as amostras são levadas ao microscópio para proceder à leitura e identificação (VIEIRA et al., 2016). E o exame para a identificação de endoparasitos consiste na identificação de suas características morfológicas através do exame microscópico, após a etapa de clarificação.

A pesquisa de *Leishmania* spp consiste na identificação microscópica das formas amastigotas do protozoário nas diferentes coletas citológicas como suabe ocular, aspirados de medula óssea, linfonodo, *imprint* de lesões, sangue periférico e raspado profundo de pele, método considerado como diagnóstico definitivo (LAPPIN, 2015).

2.2.3 Teste imunocromatográfico para *Leishmania* spp

É considerado um teste rápido e de triagem para cães e consiste na pesquisa de anticorpos específicos para *Leishmania* spp em soro, plasma ou sangue total venoso. O princípio é a ligação do anticorpo, quando presente na amostra, e sua combinação de proteína A conjugada a partículas de ouro coloidal que reage com os antígenos recombinantes de *Leishmania chagasi* ligados a uma membrana do teste. A adição da solução tampão permite o direcionamento dos anticorpos da amostra até a linha do teste, que em amostras reagentes será corada. Na ausência

de anticorpos não haverá pigmentação da linha do teste, porém haverá tingimento da linha de controle do teste (BIO-MANGUINHOS, 2014).

3. DESCRIÇÃO DOS LOCAIS DO ESO

3.1 Laboratório de Diagnóstico Animal (LADA)

O Laboratório de Diagnóstico Animal LTDA (LADA) é um laboratório particular localizado na Rua Caratinga, nº25, Bairro Madalena na cidade do Recife –PE. O horário de funcionamento é de 08:00 às 18:00 horas, de segunda a sexta-feira. A estrutura física compreende:

- Sala de Reuniões
- Sala de Administração
- Laboratório
- Sala de descontaminação
- Sanitário
- Almoxarifado
- Copa
- Pátio

Trata-se de um laboratório voltado para a área de diagnóstico avícola. O LADA recebe e processa, em média, 200 amostras (divididas em soro, farinhas de origem animal, ração, água, ovos) mensais. As amostras são oriundas, geralmente, de diferentes granjas de postura, granjas de frango de corte, incubatórios e empresas de diversas cidades do estado de Pernambuco.

As principais atividades realizadas no laboratório são:

- Pesquisa de *Salmonella* spp em ovos
- Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA)
- Teste de Inibição da Hemaglutinação (HI)
- Teste de Soroaglutinação Rápida (SAR)
- Antibiograma
- Monitoria sanitária em incubatórios
- Análise de pontos críticos de controle em fábricas de ração
- Pesquisa de micotoxinas em matérias-primas
- Análise bacteriológica da água
- Teste de eficiência em desinfetantes

- Testes micológicos
- Necropsia em aves da indústria avícola

As amostras são recebidas devidamente acondicionadas (sacos plásticos, envelopes, isopor com gelo reciclável) e identificadas com o nome da empresa, local de coleta, data de coleta e tipo de amostra. São realizadas anotações em um livro de registro (para cada tipo de exame há um livro) e identificadas com um número para controle interno, para então seguir para o armazenamento ou direto para o processamento de acordo com cada método diagnóstico.

Os principais equipamentos de proteção individual são jaleco, luvas, sapato fechado, óculos, máscara e protetores auriculares quando necessário. Os principais materiais para execução das atividades são: placas de Petri descartáveis, ponteiras para pipetas automáticas, vidrarias (tubos de ensaio, béquer, piseta, proveta, erlenmeyer, tubos de durhan), tubos para diluição, sacos plásticos descartáveis (tipo Ziplock®), água destilada, algodão hidrofóbico, papel madeira.

Na rotina os principais meios de enriquecimento, cultura e biquímicos são: Água Peptonada, Caldo Rappaport-Vassiliadis, Ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD), Ágar Levine, Ágar Mueller Hinton, Caldo Infusão Cérebro e Coração (BHI), Caldo Lauril Sulfato, Ágar Sahid Ferguson Perfringens (SFP), Ágar Sangue, Ágar Sabouraud, Meio à base de Uréia, Citrato de Simmons, meio Triplo Açúcar Ferro (TSI) e Ágar Lisina. A necessidade de alguns destes meios pode variar de acordo com a demanda, mas em geral são preparados semanalmente de acordo com os fabricantes e literatura científica.

Os materiais contaminados e perfuro-cortantes são recolhidos por uma empresa terceirizada uma vez por semana. A limpeza é feita uma vez por semana, mas a descontaminação das vidrarias e a manutenção da limpeza é feita diariamente.

3.2 Laboratório de Doenças Parasitárias (DMV-UFRPE)

O Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE, localizado na Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Bairro Dois Irmãos na cidade do Recife-PE. É um setor que atende ao público do Hospital Veterinário (HOVET) desta instituição e aos encaminhamentos para o Ambulatório de Leishmaniose demandados por médicos veterinários da própria instituição ou particulares. O funcionamento ocorre de segunda a sexta-feira das 8:00 às 18:00 horas. A estrutura física compreende:

- Laboratório
- Laboratório para processamento de fezes
- Laboratório de biologia molecular

- Flebotomário
- Almoxarifado
- Sala de microscopia
- Sala de estudo toxicológico
- Sala de estudos
- Sanitário feminino
- Sanitário masculino
- Copa

Trata-se de um laboratório que realiza exames para diversas espécies animais, sendo os domésticos a maior casuística. O laboratório processa aproximadamente 300 amostras mensais.

As principais atividades realizadas pelo laboratório são:

- Exame Coproparasitológico
- Pesquisa de *Leishmania* spp
- Pesquisa de Hematozoários
- Diagnóstico de Ectoparasitoses
- Diagnóstico de Endoparasitoses

As amostras são recebidas devidamente acondicionadas, em tubos com EDTA para sangue, e potes de colheita para o exame coproparasitológico, identificadas com o nome do animal, número de prontuário no HOVET, espécie, data de coleta e acompanhadas de requisição devidamente preenchida, carimbada e assinada pelo médico veterinário solicitante. Imediatamente são anotadas em um livro de registro, existe um para os atendimentos de rotina e outro para animais do Ambulatório de *Leishmania*, e recebem um número para controle interno de amostras, para então seguir para o processamento de acordo com cada método diagnóstico.

Os principais equipamentos de proteção individual são jaleco, luvas e sapato fechado. Os principais materiais para execução das atividades são agulhas, seringas, eppendorfs, EDTA, lâminas e lamínulas para microscopia, óleo de imersão, solução hipersaturada (de açúcar ou de sal), tubo de fundo chato sem orla, tubos falcon, lâminas de bisturi, água destilada, solução de lactofenol de Aman (clarificante), álcool e hidróxido de potássio.

Os materiais contaminados e perfuro-cortantes são recolhidos por uma empresa terceirizada, bem como a higienização e limpeza pesada. As vidrarias e equipamentos utilizados são lavados e descontaminados diariamente.

4. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DO ESTÁGIO

4.1 Atividades acompanhadas no Laboratório de Diagnóstico Animal Ltda (LADA)

Durante o período de estágio no laboratório, de 08/05/2018 a 15/06/18, obedecendo a seu horário de funcionamento, foram acompanhadas as seguintes atividades descritas no quadro abaixo.

Quadro1. Tipos de exames, métodos empregados e quantidade de amostras.

ATIVIDADE	MATERIAIS	MÉTODO	QUANTIDADE
Análise sorológica	Soro	SAR, ELISA, HI	108
Pesquisa de micotoxinas	Milho, Ração	ELISA	17
Análise microbiológica em farinhas de origem animal e rações	Farinha de Carne, Farinha de Vísceras, Farinha de Penas, Ração	Microbiológico	85
Análise microbiológica em água	Água	NMP	01
Pesquisa de <i>Salmonella spp</i> em ovo	Ovos	Microbiológico	06
Pesquisa de <i>Salmonella spp</i> em materiais biológicos	Intestino, Coração, Fígado	Microbiológico	04
Suabe de superfície	Suabe	Microbiológico	04
Cultura e identificação bacteriana	Articulação	Microbiológico	02
Pesquisa de fungos	Milho, Ração, Cama Aviária	Microbiológico	04
TOTAL	16	06	228

4.1.1 Análises sorológicas

O princípio da soroaglutinação rápida em placa consiste em identificar a presença de anticorpos nas diferentes amostras a partir da mistura de partes iguais da mesma e do antígeno, consiste no kit comercial, em que o antígeno já vem colorido para facilitar a identificação dos grupos, homogeneizando-se a mistura por dois minutos através de movimentação da própria placa. Este método é empregado no laboratório conforme as normas do fabricante e para se fazer a monitoria dos plantéis de aves.

Entretanto, o HI é um método empregado para a mensuração da resposta vacinal ou evidência de contato com o agente infeccioso, e no laboratório a técnica é executada conforme manual próprio. Assim, utiliza-se uma placa de 96 poços, pipetas, soros, papa de hemácias de

aves que não tenham anticorpos contra o patógeno diluída em PBS, antígeno (NDV) previamente diluído em 4 UHA (Unidades Hemaglutinantes). O controle positivo é preparado utilizando um soro sabidamente positivo. A última coluna do teste recebe apenas os 100µL de PBS e os 50µL solução de hemácias, sendo este o controle negativo. Em seguida faz-se a diluição dos 50µL de soro em 50µL PBS nos seus respectivos poços diluindo a amostra (utiliza-se a pipeta multicanal). Colocar a mesma quantidade de 50µL do antígeno NDV em cada poço, excetuando-se o controle negativo (Figura 1A). Aguardar 30 minutos. Acrescentar a diluição de hemácias (Figura 1B). Aguardar 30 minutos e proceder a leitura do teste que é feita virando a placa de maneira que se observe até onde ocorre a inibição da hemaglutinação, ou seja, até onde as hemácias “escorrem” (Figura 1C). O título de anticorpos da amostra é medido e expresso na máxima diluição em que se detectam os anticorpos, ou seja, até o poço em que ocorreu a inibição da hemaglutinação, isso é percebido inclinando a placa. As hemácias decantam ao fundo e quando se inclina a placa elas “escorrem” no fundo do poço, pois o soro que contém títulos a partir de 1:16 inibe a capacidade do vírus de aglutinar as hemácias (o que formaria um tampão).

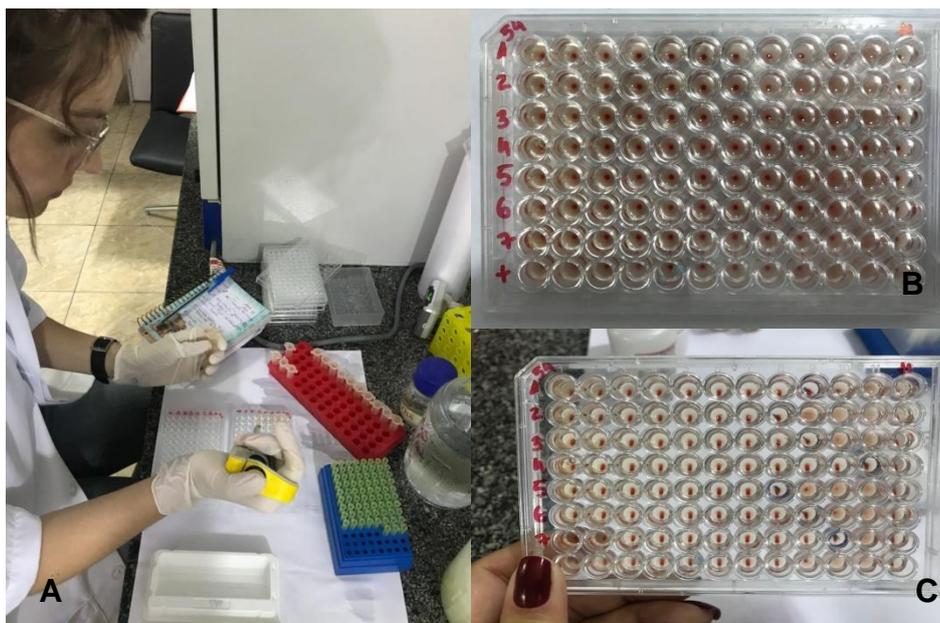


FIGURA 1. Teste de Inibição da Hemaglutinação. Fonte: Arquivo pessoal, 2018.

E o ELISA indireto é realizado de acordo com as instruções do fabricante e consiste em kit industrializado para cada um dos diferentes anticorpos que indicam desafio a se pesquisar. O teste consiste em uma estrutura previamente preparada (placa com poços) contendo um antígeno onde são adicionadas as amostras de soro, devidamente diluídas e pipetadas 100µL, que se deseja testar. Havendo anticorpos no soro haverá a reação destes com o antígeno. Em seguida se procede à adição de 100µL do conjugado que se resume a anticorpos anti-imunoglobulinas ligados à enzima peroxidase. Esta enzima reage com o substrato apropriado (neste caso uma diluição de água oxigenada em conjunto com uma substância química responsável pela alteração

da cor) e a reação que colorifica o meio ocorre quando a água oxigenada é desdobrada em presença da peroxidase. Em seguida adiciona-se 100µL da solução “stop” para cessar a reação. Após o término destas etapas a placa foi submetida à leitura da densidade óptica (espectrofotometria). A curva de calibração do leitor e a correta utilização dos controles positivos e negativo são mecanismos de validação dos testes.

4.1.2 Pesquisa de Micotoxinas

Para a pesquisa em amostras de componentes como milho ou ração, o teste realizado foi o ELISA por bloqueio direto conforme instruções do fabricante. Procedeu-se à pesagem e extração da amostra realizou-se a diluição e agitação por três minutos da amostra em álcool metílico a 70% e sua sequência de diluição de 1:100. O kit contém uma placa sensibilizada com a micotoxina a ser testada à qual será adicionada a diluição da amostra e um conjugado composto por anticorpo e contendo uma pigmentação azul. Poderá ocorrer a ligação do anticorpo à micotoxina contida na placa, ou haverá competição pelos sítios de ligação do anticorpo com as possíveis micotoxinas presentes na amostra. Caso haja pouca, ou nenhuma micotoxina, ocorrerá máxima ligação entre o conjugado e a placa sensibilizada, portanto o que dará cor neste caso será a ausência da substância a ser pesquisada. Após o término destas etapas a placa é submetida à leitura da densidade óptica (espectrofotometria).

4.1.3 Análise microbiológica em farinhas de origem animal e rações

As amostras são devidamente pesadas, coletadas 25g e diluídas em 225ml de água peptonada (10^{-1}) servindo esta diluição para a pesquisa de todos os microrganismos (Figura 2A). Para a pesquisa de *Clostridium perfringens* realiza-se a diluição seriada até 10^{-3} (Figura 2B e Figura 2C) e plaqueamento *pour plate* (Figura 2D) em meio SFP, incuba-se em anaerobiose por 24 a 48 horas a 37° C, e posteriormente procede-se a contagem das colônias (Figura 3). Para a pesquisa de *Escherichia coli* realiza-se a semeadura de uma alçada da diluição (10^{-1}) em placa contendo Ágar Levine, incuba-se por 24 a 48 horas e após realiza-se a leitura. Para pesquisa de *Salmonella* spp incuba-se a diluição por 24 horas e depois se transfere 1ml desta solução para o Caldo Rapaport (9ml), para então incubar novamente e em 24 horas semear em placa de petri contendo Ágar XLD. As colônias crescem, respectivamente, com a coloração negra, verde-metálico conforme as técnicas descritas.

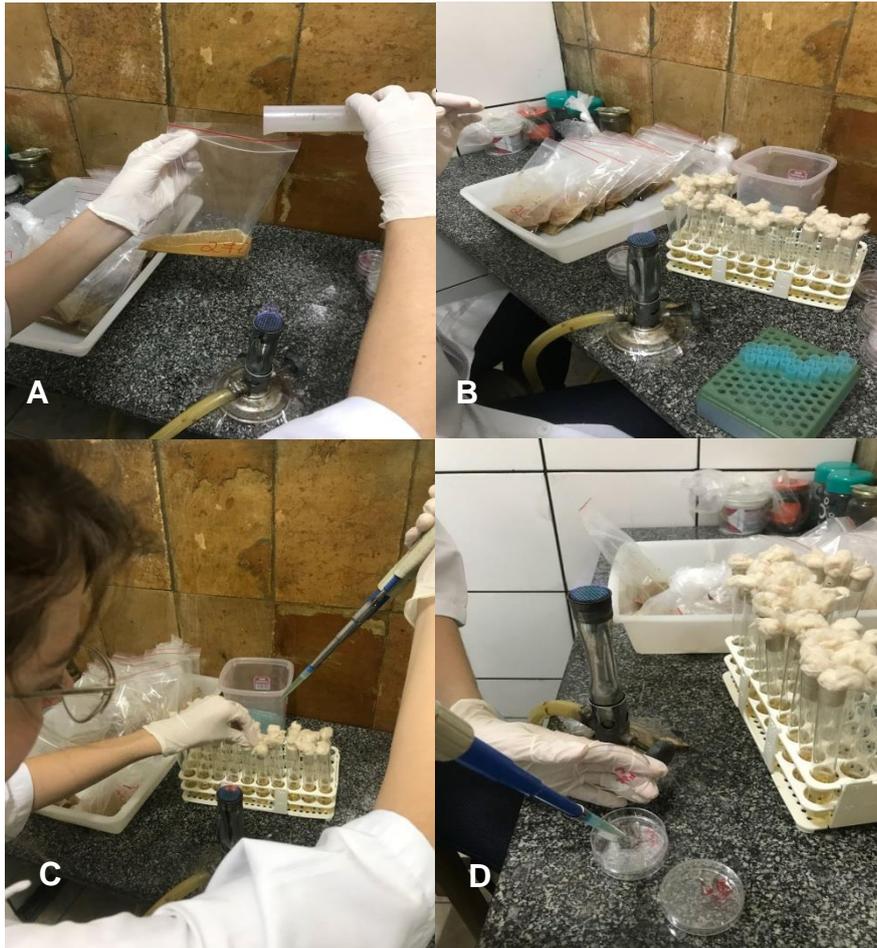


FIGURA 2. Análise Microbiológica em FOA's e Rações. Fonte: Arquivo pessoal, 2018.

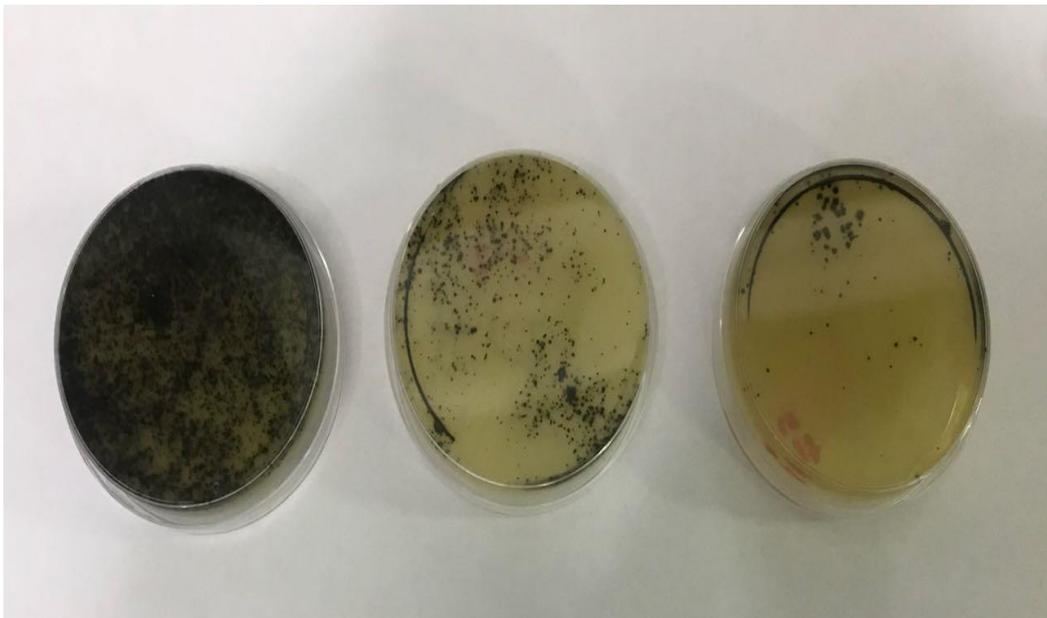


FIGURA 3. Colônias de *Clostridium perfringens* em ágar SFP. Fonte: Arquivo pessoal, 2018.

4.1.4 Análise microbiológica em água

A metodologia para a análise microbiológica da água consiste em uma triagem, é baseada no cultivo e consiste em inocular a amostra, previamente diluída em triplicata (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}), em Caldo Lauril Sulfato de Sódio contido em tubo de ensaio com tubo de Duhran e incubando-se a 37°C por 24 horas. A presença dos coliformes totais é evidenciada pela formação de gás no tubo de Duhran.

4.1.5 Pesquisa de *Salmonella* spp em ovos

A pesquisa de *Salmonella* em ovos comerciais se dá através das etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo e isolamento de colônias em meio sólido seletivo, conforme o método de cultura e isolamento descritos na legislação. A etapa de pré-enriquecimento consiste na pesagem de 25g da amostra, pool de gema de 10 ovos, e adição 225 ml de água peptonada que consiste no pré-enriquecimento. A diluição é homogeneizada e incubada a 37°C por 24 horas. O meio para enriquecimento seletivo é o Caldo Rappaport-Vassiliadis (9ml) ao qual é adicionado 1ml da amostra, diluição incubada novamente sob as mesmas condições acima citada. Em seguida, procede-se a semeadura em ágar XLD, incubando-se a 37°C por 24 a 48 horas, procedendo-se à leitura em seguida.

4.1.6 Pesquisa de *Salmonella* spp em materiais biológicos

É realizada através das etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo e isolamento de colônias em meio sólido seletivo, conforme o método de cultura e isolamento descritos na legislação. A etapa de pré-enriquecimento consiste na pesagem de 25g de amostra, pool de 25g de materiais e adição 225 ml de água peptonada. A diluição é homogeneizada e incubada a 37°C por 24 horas. O meio para enriquecimento seletivo é o Caldo Rappaport-Vassiliadis (9ml) ao qual é adicionado 1ml da amostra, diluição incubada novamente sob as mesmas condições. Em seguida, procede-se a semeadura desta solução em ágar XLD, incubando-se a 37°C de 24 a 48 horas, procedendo-se à leitura em seguida.

4.1.7 Suabe de superfície

A amostra é adicionada à água peptonada para o enriquecimento não seletivo, servindo esta diluição para a pesquisa de todos os micro-organismos. Para a pesquisa de *Clostridium perfringens* realiza-se o plaqueamento *pour plate* em meio SFP, incuba-se a 37°C por 24 horas a 48 horas e após procede-se a contagem das colônias. Para a pesquisa de *Escherichia coli* realiza-se a semeadura em placa contendo Ágar Levine, e incuba-se a 37°C por 24 a 48 horas e procede-se

a leitura. Para pesquisa de *Salmonella* spp incubava-se a diluição por 24 horas e depois se transfere 1ml desta solução para o Caldo Rapaport (9ml), para então incubar novamente e em 24 horas semear em placa de petri contendo Ágar XLD. As colônias crescem, respectivamente, com a coloração negra ou verde-metálico.

4.1.8 Cultura e identificação bacteriana

As amostras de material biológico, como articulações de frangos de corte foram manuseadas de maneira asséptica, semeadas em placa contendo ágar sangue ovino a 10% e incubadas em estufa a 37°C por 24 a 48 horas, a fim de isolar possíveis micro-organismos presentes na amostra e posteriormente procedeu-se à leitura da placa.

4.1.9 Pesquisa de Fungos

O método biológico tradicional foi utilizado através de cultivo de uma porção da amostra, como milho, ração ou cama em placa de petri contendo Ágar Sabouraud, incubando-se em estufa a 37°C por 24 a 48 horas. Após, procedeu-se a leitura, verificando ou não a presença de fungos e características macroscópicas das colônias.

4.2 Atividades acompanhadas no Laboratório de Doenças Parasitárias

Durante o período de estágio de 18/06/2018 a 23/07/2018 foram acompanhadas as seguintes atividades descritas no quadro abaixo.

Quadro 2. Tipos de exames, técnicas empregadas e quantidade de amostras.

EXAME	TÉCNICA	AMOSTRAS
Pesquisa de hematozoários	Pesquisa direta	75
Pesquisa de microfilárias	Knott modificado	56
Exames coproparasitológicos	Flotac, MiniFlotac, Hoffman, Wyllis	14
Identificação de endoparasitos	Exame direto	2
Identificação de ectoparasitoses	Exame direto	6
Teste de triagem para <i>Leishmania</i> spp (DPP®)	Imunocromatografia	122
Pesquisa de <i>Leishmania</i> spp	Pesquisa direta	91
TOTAL	8	366

4.2.1 Pesquisa de Hematozoários

A confecção do estirado sanguíneo é feita depositando-se uma gota de sangue da amostra sobre o terço inicial de lâmina para microscopia, posiciona-se a extensora na frente da gota e realiza-se o estirado sanguíneo espalhando o material até o final da lâmina (Figura 4A),

formando no terço final da mesma uma “franja”. O material seca naturalmente (Figura 4B) e procede-se à fixação, coloração (Figura 4C) e leitura microscópio óptico. A tendência é que os parasitos se encontrem nas bordas do estiraço e na franja, contudo é feita a observação de todas as áreas.

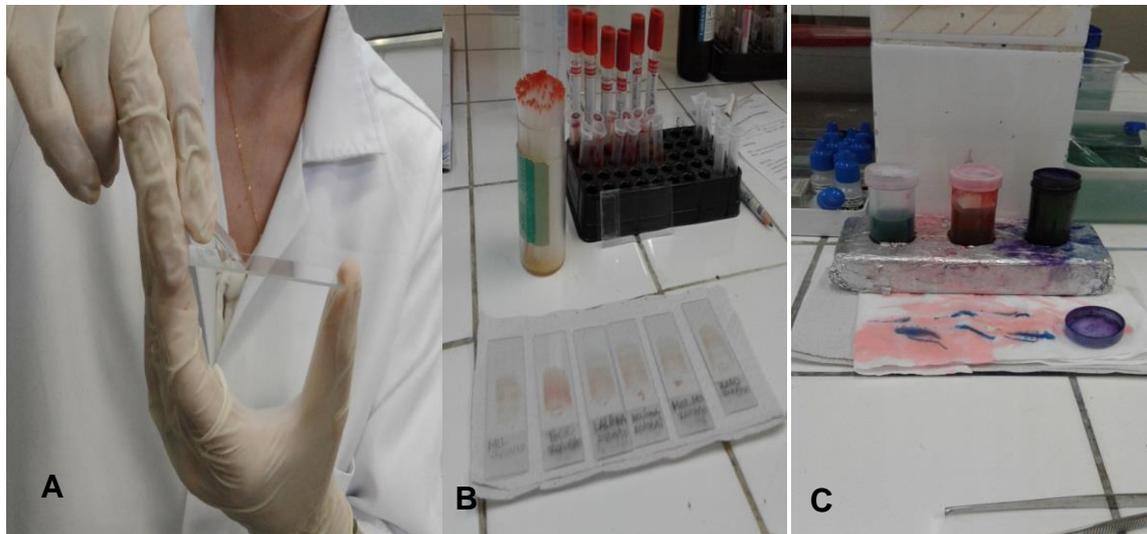


FIGURA 4. Confeção de estiraço para pesquisa de hematozoários. Fonte: Arquivo pessoal, 2018.

4.2.2 Pesquisa de Microfilárias

Para a realização do exame é realizada a pipetagem de 1mL de sangue e transferência para tubo Falcon onde são acrescentados 9mL de água destilada (Figura 5A). Com o tubo devidamente fechado, se procede à centrifugação a 1500 rpm durante 10 minutos (Figura 5B). Despreza-se o sobrenadante (Figura 5C) e repete-se o procedimento de mistura da água destilada (Figura 5D), centrifugação e retirada do sobrenadante por mais uma, ou duas vezes, caso seja necessário. Realiza-se então três pipetagens de 20 μ L cada seguidas por espalhamento em formato predefinido (Figura 5E), em lâmina de microscópio previamente limpa com algodão embebido em álcool e identificada. O conteúdo seca naturalmente e em seguida é feita a fixação e coloração pelo método Panótico (Figura 5F) e a leitura é realizada utilizando-se a objetiva de 10X e de 40X. Realiza-se a contagem dos parasitos das três lâminas, obtém-se a média e multiplica-se pelo fator 50, sendo este resultado dado em microfilárias por mL.

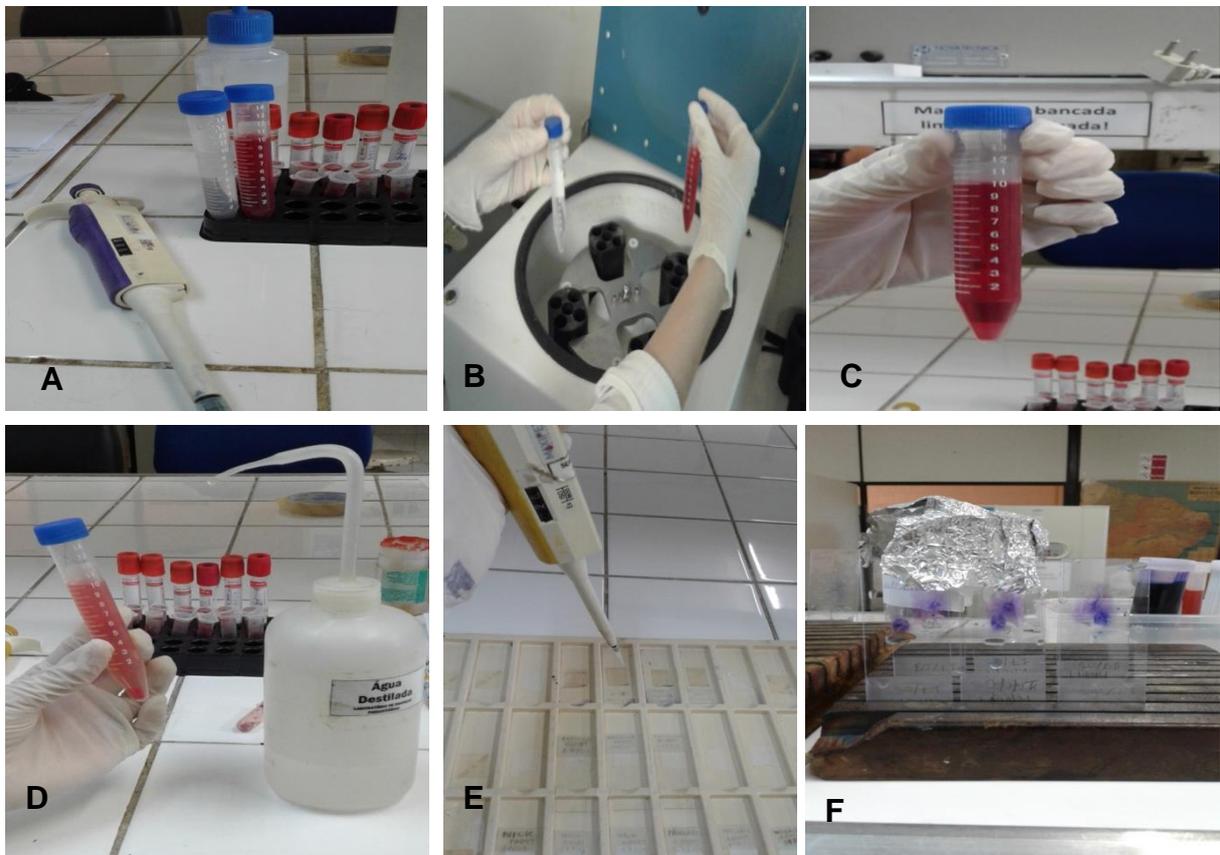


FIGURA 5. Confeção de Knott modificado para pesquisa de microfilárias. Fonte: Arquivo pessoal, 2018.

4.2.3 Exame coproparasitológico

A principal técnica realizada foi o FLOTAC. É uma técnica de Que consiste em misturar 2g de amostra de fezes em 18mL de água. Homogeneizar a amostra até que dissolva e na sequência tamisar em peneira forrada com gaze ou com o Filflotac (Figura 6A). Depositar a solução em um tubo falcon (Figura 6B) e levar à centrifuga a 1500 rpm por 3 minutos. O sobrenadante é descartado e acrescenta-se 18 mL de solução hipersaturada de cloreto de sódio (Figura 6C). Homogeneiza-se com a pipeta de Pasteur e preenche-se a câmara de FLOTAC (Figura 6D), evitando a formação de bolhas. Realiza-se uma nova centrifugação por 5 minutos. Após esta etapa gira-se o compartimento e procede-se à leitura em microscópio em objetiva de 10X.

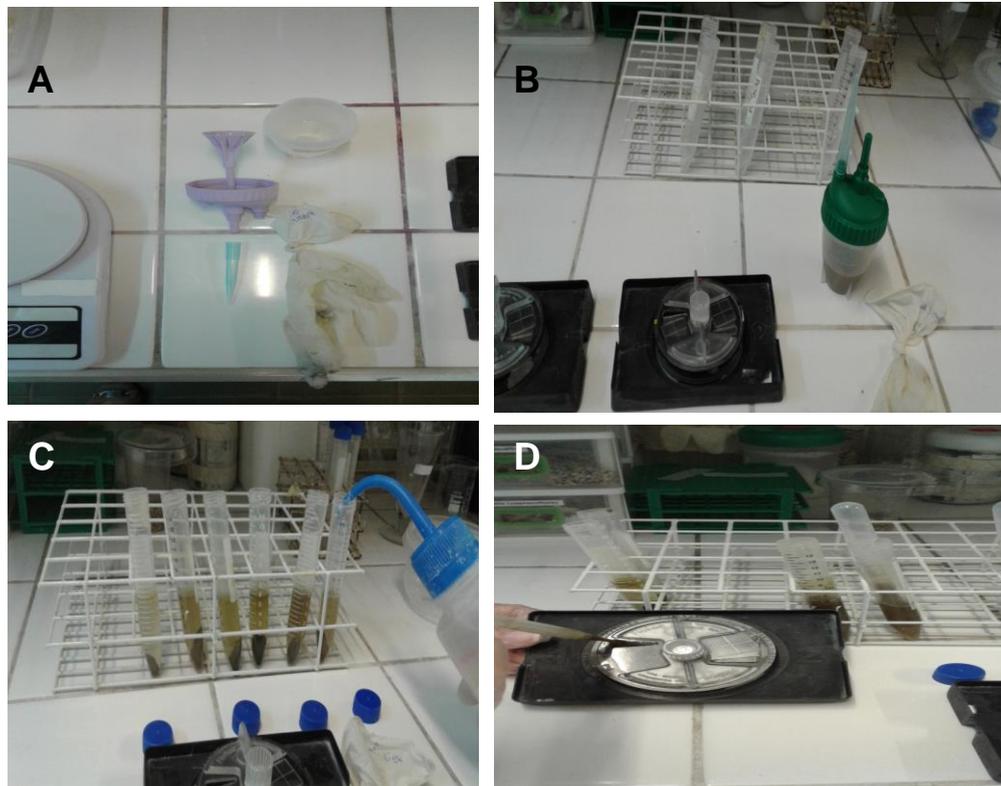


FIGURA 6. Realização da técnica de FLOTAC. Fonte: Arquivo pessoal, 2018.

4.2.4 Identificação de endoparasitos

A identificação de endoparasitos inicia com a clarificação das amostras embebendo-a em solução de lactofenol de Amann colocados entre lâmina e lamínula e observando suas características estruturais em microscópio.

4.2.5 Identificação de ectoparasitos

É realizada através do raspado profundo de pele do animal, que deve ser posicionado e contido sobre a mesa para que seja realizada a escarificação da pele utilizando uma lâmina de bisturi até que a mesma sangre levemente. O material colhido é espalhado em uma lâmina de microscopia devidamente identificada, seca naturalmente e procede-se à fixação e coloração em método Panótico e leitura em microscópio óptico na objetiva de 100X.

4.2.6 Teste de triagem para *Leishmania* spp

O teste para anticorpos contra o protozoário *Leishmania* spp é realizado através da deposição da amostra de sangue no poço indicado na placa do teste juntamente com duas gotas da solução tampão (Figura 7A). Com essa mistura ocorre a ligação dos anticorpos com os antígenos. Após 5 minutos quatro gotas da solução tampão são adicionadas no poço indicado que propiciará a ligação do conjugado aos anticorpos se estiverem presentes, tingindo a linha do teste e continuando a correr para a linha de controle, também tingindo-a (Figura 7B). Caso a linha de controle não seja corada o teste é dito inválido.

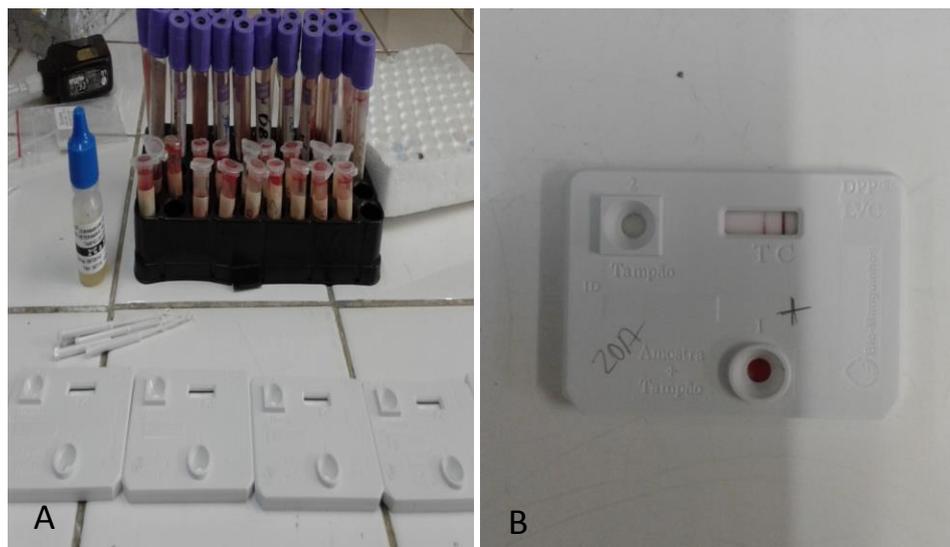


FIGURA 7. Realização teste rápido para *Leishmania* spp. Fonte: Arquivo pessoal, 2018.

4.2.7 Pesquisa de *Leishmania* spp

É realizada a partir de amostras de medula óssea através de punção aspirativa, citologia de linfonodo, citologia ocular e raspado de pele. É confeccionada uma lâmina através de “squash” que consiste no espalhamento da amostra utilizando uma lâmina sobre outra lâmina para microscopia. Esta lâmina seca naturalmente e em seguida é fixada e corada pelo método Panótico rápido e levada à leitura em microscópio óptico nas objetivas de 40X e 100X em busca de amastigotas do protozoário.

5. DISCUSSÃO DAS ATIVIDADES

5.1 Discussão das Atividades Desenvolvidas no LADA

5.1.1 Análise sorológica

Os testes de SAR foram solicitados como parte da monitoria sanitária rotineira das propriedades para *M. gallisepticum* e *M. synoviae*, Da mesma forma que os testes de HI e ELISA realizados no laboratório foram requeridos para verificar a eficiência da vacinação para a Doença de NewCastle. São utilizados para confirmar a presença de anticorpos contra a doença. Conforme o esperado, o ideal é que haja a presença dos anticorpos mediante programa vacinal eficiente.

A monitoria para a verificação da eficácia da vacinação do plantel de aves é fundamental para a sanidade animal. Essa prática possibilita a verificação de possíveis falhas no manejo e administração de vacinas assim como inferir se há desafios de campo.

Durante o estágio no LADA o teste de HI foi o que gerou maior dificuldade, pois a diluição correta do antígeno, verificada mediante titulação, e a viabilidade ou não das hemácias utilizadas interferem no correto funcionamento do teste. Essas variações interferem diretamente na validade do teste e devem ser minuciosamente respeitadas seguindo as instruções do manual do laboratório.

Podem acontecer erros no processamento dos exames sorológicos, tais como a mudança na fonte do antígeno o que dificulta interpretação adequada ou alternância nos técnicos de laboratório, estresse do animal no momento da coleta, armazenamento inapropriado o que acarretará em resultado duvidoso, por isso, o ideal é a padronização da técnica empregada (CARDOSO, 2009).

5.1.2 Pesquisa de micotoxinas

Para a pesquisa das micotoxinas T-2 (tricoteceno), Fumonisina e Aflatoxina são empregados testes de ELISA por bloqueio direto. As principais amostras analisadas durante o período foram milho e ração. Das amostras analisadas algumas resultaram positivas para Fumonisina e/ou T-2. Todas as amostras foram negativas para a presença de aflatoxina. De maneira geral, estima-se que 25% da produção de grãos no mundo sejam contaminadas por micotoxinas (MALLMAN, 2016), corroborando com o que foi analisado durante o estágio.

Essas toxinas precisam ser monitoradas uma vez que implicam em problemas à saúde pública e à produção animal. Na produção animal, diversas enfermidades relacionadas à imunossupressão são causadas pela exposição contínua a esses contaminantes (NONES et al., 2017). Imunossupressão, lesões orais como erosões, ulcerações e necrose, diminuição na produção de ovos, problemas no empenamento e desenvolvimento animal causando perdas econômicas (MALLMANN et al., 2009).

5.1.3 Análise microbiológica em farinhas de origem animal e rações

A análise microbiológica em farinhas de carne, penas e vísceras e rações consistiram na cultura e isolamento de *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp em farinhas de origem animal. A contaminação pelos diferentes patógenos foi verificada em algumas amostras das diferentes Farinhas de Origem Animal (FOA's), componentes para a ração de aves.

A legislação vigente IN nº34/2008 prevê a ausência de salmonela em 25g de farinhas de origem animal e não estabelece parâmetros para os demais contaminantes, portanto o resultado positivo obtido não está de acordo com a legislação vigente. Ainda, quanto aos demais contaminantes, as infecções causadas dependem de fatores como a quantidade ingerida, a imunidade do animal e doenças concomitantes. Contudo, a presença de contaminação em FOAS evidencia falhas no manejo desse material, como cocção em temperaturas inadequadas e contaminação no ambiente de armazenamento (BELLAVÉR, 2005).

5.1.4 Análise microbiológica em água

Vale ressaltar que os coliformes são o grupo de indicadores mais utilizados no controle microbiológico da água e indicam a presença de contaminação fecal. Além disso, a água se caracteriza como excelente via de transmissão de patógenos principalmente por via oral-fecal ratificando a importância desta análise (AMARAL; PINTO, 2012; FARIA et al., 2009). A amostra analisada durante o estágio foi negativa, estando em conformidade com o que recomenda a literatura.

5.1.5 Pesquisa de *Salmonella* spp em ovos

Como o ovo é um importante alimento veiculador de DTA, durante o período de estágio nenhuma amostra foi positiva na pesquisa de *Salmonella* em ovos comerciais, esta é realizada com as etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo e isolamento de colônias em meio sólido seletivo, conforme o método de cultura e isolamento.

A contaminação do ovo por salmonela ocorre pela via transovariana, pelo contato com o patógeno no ambiente de postura ou pela presença de trincas ou rachaduras. No caso da via transovariana os processos de desinfecção não serão eficientes, uma vez que o microrganismo estará presente na gema. Em um estudo desenvolvido para avaliar a contaminação de ovos por salmonela, das 60 amostras de ovos comerciais e caipiras nenhuma foi positiva (MOTTIN et al., 2016), corroborando com os achados vivenciados durante o estágio supervisionado.

5.1.6 Pesquisa de *Salmonella* spp em materiais biológicos

Os materiais biológicos analisados foram baço, coração e conteúdo intestinal e a técnica utilizada foi à cultura e isolamento, seguindo as etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento

seletivo e isolamento de colônias em meio sólido seletivo, e os resultados das amostras foram negativos. De acordo com Cardoso e Tessari (2013) a salmonelose apresenta prevalência diferenciada nas diversas regiões do país e sua epidemiologia e controle são bastante complexas. Isso decorre fundamentalmente da condição de criação dos animais, padrões de higiene e biossegurança, nível de contaminação do alimento, fatores socioeconômicos e fatores ambientais.

Por seu caráter endêmico, alta morbidade, dificuldade de controle na produção avícola e pelas questões relativas à saúde pública, a salmonelose é considerada uma das doenças mais problemáticas da avicultura necessitando de monitoramento (CARDOSO; TESSARI, 2015).

5.1.7 Suabe de superfície

Este método consiste na cultura e isolamento bacteriano, na amostra analisada foi isolada *E. coli*. Este método é bastante utilizado na monitoria da limpeza e desinfecção dos ambientes de produção, bem como para a análise dos pontos críticos nas fábricas de rações. As más condições ambientais e de manejo são fundamentais para que haja a infecção bem como a contaminação fecal da casca do ovo que é uma das principais vias de transmissão para os pintainhos causando onfalite e resulta em alta mortalidade embrionária e perdas econômicas (FERREIRA; KNOBL, 2009).

5.1.8 Cultura e identificação bacteriana

Os métodos tradicionais para cultura e isolamento bacteriano são amplamente utilizados para avaliação dos diferentes materiais em avicultura. Podem ser coletados tecidos, órgãos ou mesmo lesões e tecidos, durante a necropsia e os mesmos submetidos à ágar mais genéricos e mais sensíveis, como o ágar sangue. Nesta análise de conteúdo de articulação, previamente recebida, foi encontrado *Staphylococcus* ssp que é uma bactéria de pouca relevância, pois dificilmente causa problemas de maneira isolada. Contudo, embora a mortalidade e morbidade sejam baixas, infecção pelo agente pode indicar a presença de outras doenças concomitantes (FERREIRA; FERREIRA, 2009).

5.1.9 Pesquisa de Fungos

A pesquisa de fungos em cama, ração e milho demonstrou resultados negativos. A enfermidade fúngica mais importante para a avicultura é a aspergilose e sua principal apresentação clínica é a respiratória, causada pela inalação de conídios de *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus flavus*, principais agentes etiológicos presentes, na ração, cama ou contaminação do ovo durante a incubação. Embora a sua incidência seja baixa é uma doença importante, pois gera prejuízos econômicos quando o plantel é afetado. Pode se apresentar de forma aguda em aves

mais jovens causando alta morbidade e mortalidade, ou de forma crônica e esporádica em animais mais velhos, geralmente imunocomprometidos. O tratamento da doença na produção é difícil e inviável do ponto de vista econômico tendo que se ter a maior atenção e cuidado na prevenção e controle. O maior desafio na prevenção é que esses fungos podem estar presentes em todas as fases da produção (CEOLIN et al., 2012).

5.2 Discussão das Atividades Desenvolvidas no Laboratório de Doenças Parasitárias

5.2.1 Pesquisa de Hematozoários

A realização de uma técnica de estiraço sanguíneo adequada auxilia em muito a pesquisa dos possíveis parasitos. A formação de uma camada simples de células dispersas individualmente e homogeneamente na lâmina permite a visualização mais clara das anormalidades. A principal área da lâmina a ser analisada é que antecede a cauda do estiraço, que é onde as células estão mais dispersas. Porém a própria cauda do estiraço em baixa magnificação permite a observação de anormalidades como agregados plaquetários, microfilárias e células grandes, pois as mesmas se depositam ali (WEISER, 2015).

Os principais resultados encontrados na Pesquisa de Hematozoários foram, *Leishmania* spp, *Hepatozoon* spp, *Babesia* spp e *Anaplasma platys* (*Rickettsia*) em cães. São parasitos comumente descritos na literatura, podendo ser demonstrados em amostras citológicas de diversos tecidos, incluindo o sangue periférico; este método diagnóstico pode ser presuntivo ou definitivo a depender da presença do agente ou da fase de infecção em que se encontra o animal (LAPPIN, 2015). São importantes causas de doença em pequenos animais, podendo levar à morte.

5.2.2 Pesquisa de Microfilárias

O teste de concentração de microfilárias, conhecido como Knott modificado, realizado no laboratório, está de acordo com o descrito na literatura (LAPPIN, 2015) permitindo identificar por meio direto a presença e contagem de microfilárias circulantes, dando uma estimativa da infecção. É um teste relativamente fácil de executar, e o mesmo foi conclusivo para a condição de microfilaremia de muitos animais, porém testes sorológicos e exames de imagem complementares para os que apresentaram testes negativos são necessários.

5.2.3 Exames Coproparasitológicos

Os exames coproparasitológicos são importantes para auxiliar no diagnóstico de doenças parasitárias do trato gastrointestinal dos animais. As infecções trazem prejuízos à saúde animal e risco à saúde humana, pois muitas consistem em zoonoses e precisam ser corretamente tratadas. Ainda, no que diz respeito aos animais de produção o grau de parasitismo interfere no

desenvolvimento e sanidade animal, o que diminui o bem-estar, e resulta em perdas econômicas, além de possibilitar infecções secundárias e agravamento das perdas.

A técnica mais frequentemente utilizada no laboratório é o FLOTAC e os principais diagnósticos em cães foram *Ancylostoma* spp, *Giardia* spp e *Trichuris* spp, entretanto, em pequenos ruminantes foram ovos tipo *Strongyloidea* spp e *Moniezia* spp. Destacamos o recebimento de material fecal de codornas, identificando a presença de oocistos de *Eimeria* spp. A infecção pelo parasito *Eimeria* spp é comum em aves de produção e o diagnóstico se dá através de pesquisa de oocistos na cama ou observação de lesões intestinais (KAWAZOE, 2009) sendo importante a identificação das espécies correlacionando com a porção do intestino das espécies devido às perdas econômicas.

5.2.4 Identificação de Endoparasitos

A identificação é realizada com base nas características dos parasitos. E as amostras de parasitos provenientes de exame necroscópico foram identificadas como Cisticercos (em mesentério de ovino), *Haemonchus* spp (bovino), *Raillietina* ssp e *Ascaridia galli* em aves de experimento.

Raillietina ssp é um gênero de cestódeo achatado dorso-ventralmente e que possui ciclo indireto e é encontrado em todo trato intestinal das aves, causando queda de desempenho, perda de peso e redução na produção de ovos, devido às lesões produzidas. O cestódeo em questão tem como importante característica a presença do hospedeiro intermediário o “Cascudinho” (*Alphitobius diaperinus*), formigas, gafanhotos e moscas. E a *Ascaridia galli* é uma espécie de nematódeo que possui corpo cilíndrico e é encontrado no intestino delgado causando lesões e levando a distúrbios intestinais podendo atuar de maneira sinérgica com outros patógenos, causando perdas econômicas. A identificação das espécies de parasitos e o combate e eliminação dos hospedeiros intermediários é fundamental para o sucesso do controle. As aves acometidas devem ser tratadas e o manejo de limpeza e desinfecção do aviário são medidas importantes no controle das verminoses (SILVA; ZOCCHÉ, 2009).

5.2.5 Identificação de Ectoparasitoses

O resultado positivo encontrado no raspado profundo de pele foi o ácaro *Demodex* spp em cão. É fundamental realizar a colheita em diferentes pontos e realizar uma boa anamnese que auxiliará no diagnóstico, incluindo exames diferenciais quando for o caso. A identificação de ectoparasitos é importante para o tratamento preciso e melhoria da saúde do animal (LAPPIN, 2015).

5.2.6 Teste de triagem para *Leishmania* spp

Por se tratar de um teste sorológico utilizado para a triagem (com alta sensibilidade e especificidade para os diferentes fluidos) de casos suspeitos, demorando poucos minutos para ser realizado. É bastante utilizado na rotina do laboratório pela a casuística do HOVET em atender animais de áreas endêmicas para a doenças, devendo os testes positivos serem confirmados através de exame direto para Pesquisa de *Leishmania*.

5.2.7 Pesquisa de *Leishmania* spp

As amostras positivas, acompanhadas durante o período de estágio foram identificadas pela visualização microscópica das formas amastigotas do protozoário, nas diferentes coletas citológicas de suabe ocular, aspirados de medula óssea, amostras citológicas de linfonodo, *imprint* de lesões, sangue periférico e raspado profundo de pele. O diagnóstico definitivo é a identificação direta do parasito (LAPPIN, 2015).

Embora o diagnóstico direto tenha 100% de especificidade, a sensibilidade depende do grau do parasitismo, do tipo de material biológico coletado, do seu processamento e coloração, além do observador. Se o parasitismo for intenso o diagnóstico direto é rápido e seguro, mas em diversos casos, principalmente nos animais assintomáticos, nos quais apenas poucos parasitos estão presentes nos tecidos, o diagnóstico parasitológico torna-se difícil (LAURENTI, 2009), entretanto técnicas moleculares podem fechar o diagnóstico.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estágio supervisionado obrigatório é um momento de riqueza em aprendizado e consolidação dos conhecimentos aprendidos durante a graduação. Essa experiência permitiu reafirmar e compreender melhor as diferentes possibilidades de exames laboratoriais para avaliar e monitorar a sanidade dos animais nas diferentes etapas da produção e nas matérias-primas utilizadas ao longo de toda a cadeia produtiva.

A utilização de exames laboratoriais adequada e rotineiramente, de acordo com suas indicações, métodos de coleta e execução são práticas fundamentais para a manutenção da sanidade dos animais e, assim, da produtividade e do bem-estar animal. O conhecimento das possibilidades diagnósticas confere maior segurança ao profissional e a identificação correta da etiologia e dos agentes, confere credibilidade ao tratamento.

REFERÊNCIAS

ABPA. **Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual 2017.** Disponível em: <http://abpa-br.com.br/>. Acesso em: 5 de agosto de 2018.

ABINPET. **Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação.** Disponível em: <http://abinpet.org.br/mercado/>. Acesso em: 30 de agosto de 2018.

AMARAL, L. A; PINTO, F. C. **Controle da qualidade microbiológica da água usada em avicultura.** In: MACARI, M. SOARES, N. M. *Água na avicultura industrial.* Campinas, Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2012, p. 158-168.

BASSI, N. S. S; SILVA, C. L. **Oportunidades e desafios em PD&I na cadeia produtiva de frangos de corte.** Notas técnicas (AgroPensa). Embrapa Suínos e Aves, 2014.

BELLAVER, C. **Limitações e vantagens do uso de farinhas de origem animal na alimentação de suínos e de aves.** Versão atualizada para o 2º Simpósio Brasileiro Alltech da Indústria de Alimentação Animal. Curitiba, Paraná, 28 a 30 de agosto de 2005.

BERCHIERI Jr, A; SILVA, E.N; FÁBIO, J; SESTI, L; ZUANAZE, M.Q.F. **Doenças das aves.** 2ª ed. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009.

BIO-MANGUINHOS. **TR DPP® Leishmaniose visceral canina (Bula).** Rio de Janeiro: Instituto de tecnologia em Imunobiológicos/ Bio-Manguinhos/ FIOCRUZ, 2014.

BOCHIO, V; TAKAHASHI, S. E; GROFF, P. M; SCHADECK, M. M; SARTORI MAIER, G. **Efeitos da aflatoxina na produção avícola: Revisão.** PUBVET, v.11, n.8, p.832-839, 2017.

BORZI, M. M; OLIVEIRA, E. S; CARDOZO, M. V; ÁVILA, F. A. **Deteção de *Escherichia coli* enteropatogênica (epec) e shigatoxigênica (stec) em galinhas caipiras na região de Ribeirão Preto – SP.** ARS VETERINARIA, Jaboticabal, SP, v.31, n.2, p.41, 2015.

BRASIL. **Instrução Normativa nº62 de 26 de agosto de 2003.-** Secretaria de Defesa Agropecuária.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 34, de 28 de maio de 2008** - Secretaria de Defesa Agropecuária.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/brasileiro-e-reeleito-por-aclamacao-presidente-do-codex-alimentarius> Acesso: 11 de agosto de 2018.

CARDOSO, B. **Sorologia e interpretação**. In: REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A. J. **Patologia Aviária**. São Paulo: Manole, 2009. p.428-437.

CARDOSO, A. L. S. P; TESSARI, E. N. C. **Salmonella enteritidis em aves e na saúde pública: revisão de literatura**. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. Ano XI. v. 21, 2013.

CARDOSO, A. L. S. P; TESSARI, E. N. C. **Salmoneloses aviárias: revisão**. REVISTA ELETRÔNICA NUTRITIME – ISSN 1983-9006 www.nutritime.com.br Artigo 304. V. 1, n.3, p. 4049 – 4069, 2015.

CASTRO, A. G. M. **CAPTAA: Uma visão diagnóstica sobre a avicultura**. Entrevista concedida à Avicultura Industrial.com.br (2014). Disponível em: <https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/captaa> Acesso: 07 de agosto de 2018.

CEOLIN, L. V; FLORES, F; CORRÊA, I. M. O; LOVATO, M; GALIZA, G. J. N; KOMMERS, G. D; RISSO, N; SANTURIO, J. M. **Diagnóstico macro e microscópico de Aspergilose em frangos de corte**. Acta Scientiae Veterinariae, 40(3): 1061, p.1-4, 2012.

CERUTTI, M; **Programa de qualidade higiênica na produção avícola**. . In: BERCHIERI Jr, A; SILVA, E.N; FÁBIO, J; SESTI, L; ZUANAZE, M.Q.F. Doenças das aves. 2ª ed. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009.

FÁBIO, J. Di; ROSSINI, L. L. **Coleta e envio de material para laboratório**. In: BERCHIERI Jr, A; SILVA, E.N; FÁBIO, J; SESTI, L; ZUANAZE, M.Q.F. Doenças das aves. 2ª ed. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009.

FARIA, D. E; HENRIQUE, A. P. F; NETO, R. F; MEDEIROS, A. A; JUNQUEIRA, O. M; FILHO, D. E. F. **Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte: ácidos orgânicos e probióticos.** CIÊNCIA ANIMAL BRASILEIRA, v.10, n.1, 2009.

FERREIRA, A. J. P; KNÖBL, T. **Colibacilose.** In: BERCHIERI Jr, A; SILVA, E.N; FÁBIO, J; SESTI, L; ZUANAZE, M.Q.F. Doenças das aves. 2ª ed. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009.

FERREIRA, A. J. P; FERREIRA, C. S. A. **Estafilococose e Estreptococose.** In: BERCHIERI Jr, A; SILVA, E.N; FÁBIO, J; SESTI, L; ZUANAZE, M.Q.F. Doenças das aves. 2ª ed. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009.

FERREIRA, T. Z; SESTERHENN, T; KINDLEIN, L. **Perdas econômicas das principais causas de condenações de carcaças de frangos de corte em Matadouros-Frigoríficos sob Inspeção Federal no Rio Grande do Sul, Brasil.** Acta Scientiae Veterinariae. Pub 40(1): 1021, p.1-4, 2012.

GIUMELLI, R. D; SANTOS, M. C. P. **Convivência com animais de estimação: um estudo fenomenológico.** Rev. abordagem Gestalt. Goiânia, vol.22, n.1, 2016.

KUANA, S. L; **Limpeza e desinfecção de instalações avícolas.** In: BERCHIERI Jr, A; SILVA, E.N; FÁBIO, J; SESTI, L; ZUANAZE, M.Q.F. Doenças das aves. 2ª ed. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009.

LAPPIN, M. R. **Diagnóstico laboratorial de doenças infecciosas.** In: NELSON, R. W; COUTO, G. C. Medicina interna de pequenos animais. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. Cap. 98, p.1283-1291.

LAPPIN, M. R. **Infecções protozoárias polissistêmicas.** In: NELSON, R. W; COUTO, G. C. Medicina interna de pequenos animais. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. Cap.96, p.1367-1378.

LAPPIN, M. R. Laboratory Diagnosis of Infectious Disease. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of veterinary internal medicine**. 8a ed., SaundersElsevier. vol. 1, cap. 207, p. 2210-2225, 2017.

LAURENTI, M. D. **Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina**. Artigo de revisão. Bepa 2009; 6 (67):13-23.

MALMANN, C. A. **Blindagem científica contra as micotoxinas**. Revista feedfood (2016) Disponível em: https://www.ferrazmaquinas.com.br/uploads/tinymce/uploads/feedfood_nutricaoanimal.pdf
Acesso: 05 de Agosto de 2018.

MALLMANN, C. A; DILKIN, P; RAUBER, R. H. **Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura**. In: Doenças das aves. 2.ed.Campinas, SP: FACTA-Fundação APINCO de Ciências e Tecnologia Avícolas, 2009.

MOTTIN, V. D; LOPES, V. C; DAMÁSIO, J. M. A. **Contaminação por *Salmonella* em ovos de granja e caipira em um município do interior da Bahia**. C&D-Revista Eletrônica da Fainor, Vitória da Conquista, v.9, n.1, p.150-157, 2016.

NONES, J; SAVI, G.D; PEREIRA, L. F; FROZZA, R; RIELLA H. G; NONES, J. **Procedimentos para colheita de amostras e análises laboratoriais de micotoxinas presentes em dietas humanas e animais**. PUBVET. v.11, n.3, p.229-242, 2017.

NOVAES, M. T; MARTINS, I.V. F. **Avaliação de diferentes técnicas parasitológicas no diagnóstico de helmintoses caninas**. Rev. Bras. Med. Vet., 37(Supl.1):71-76, 2015.

SALLE, C. T. P; MORAES, H. L. S. **Prevenção de doenças**. In: BERCHIERI Jr, A; SILVA, E.N; FÁBIO, J; SESTI, L; ZUANAZE, M.Q.F. Doenças das aves. 2ª ed. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009.

SILVA, G. S; ZOCHE, A. T. **Endoparasitoses em aves de produção industrial**. In: BERCHIERI Jr, A; SILVA, E.N; FÁBIO, J; SESTI, L; ZUANAZE, M.Q.F. Doenças das aves. 2ª ed. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE. **USDA Food Composition Databases**. Disponível em: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/>

VAZ, C. S. L; JAENISCH, F. R. F. **Pesquisa é peça-chave na melhoria da segurança dos alimentos de ordem avícola**. *In: Sonho, Desafio e Tecnologia - 35 Anos de Contribuições da Embrapa Suínos e Aves*. Editores Técnicos Jean Carlos Porto Vilas Boas Souza...[et al.]. - Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011.

VIEIRA, F. P. R; SARMENTO, L. P; MARTINS, M. S. S; MARTINS, I. V. F. **Uso de métodos de flutuação na rotina laboratorial para diagnóstico das principais helmintoses de animais domésticos**. *In: VIANNA, U. R; OLIVEIRA, F. A; CARVALHO, J. R; BARBOSA, J. M. (Org).* Tópicos Especiais em Ciência Animal V. Alegre: CAUFES, 2016. Cap. 6, p.87-101.

WARE, W. A. **Dirofilariose**. *In: NELSON, R. W; COUTO, G. C.* Medicina interna de pequenos animais. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. Cap.10, p.173-188.

WEISER, G. **Tecnologia Laboratorial em Medicina Veterinária**. *In: THRALL, M. A et al.* Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 2ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. Cap. 1, p.22-86.