

## **Infecção experimental por leptospiras em ovinos pela via intraperitoneal**

Código: <b>UniPECO/INFEXP</b>		Versão: <b>01</b>	
Criado por: <b>Bruno Ribeiro Rocha</b>		Verificado por:	<b>Gabriel Martins</b>
Data de criação:	<b>16/07/2017</b>		
Assinatura:		Assinatura:	
Aprovação e controle de qualidade:			
Responsável: Bruno Ribeiro Rocha			

### **I. Considerações Gerais:**

O protocolo de infecção experimental por leptospiras em ovinos é importante do ponto de vista da biossegurança, da confiabilidade dos experimentos e do bem-estar animal, pois estabelece diretrizes e técnicas para este procedimento.

### **II. Objetivo:**

Indicar as diretrizes para a infecção experimental por leptospiras em ovinos pela via intraperitoneal.

### **III. Materiais**

- Agulhas descartáveis hipodérmicas (30x0,8 mm) - Canhão Verde
- Seringas 5ml
- Papel toalha
- Lâmina de barbear para tricotomia
- Bastão marcador a base de cera
- Estantes de tubos cônicos
- Caixa de transporte de plástico com tampa
- Descarte tipo descartpack pequeno
- Papel para anotações
- Prancheta
- Canetas esferográficas
- Canetas de retroprojeter

### **IV. Equipamentos**

- Cabine de segurança biológica
- Óculos de proteção de acrílico
- Luvas de látex descartáveis

- Macacão
- Jaleco descartável
- Máscara de procedimento descartáveis
- Botas de borracha

#### **V. Reagentes**

- Álcool 70%
- Salina estéril (0,9% NaCl)
- Sabão líquido para tricotomia
- Meio de cultura com leptospiros

#### **VI. Observações:**

Observar se não há matérias, reagentes e equipamentos faltando, se a identificação das seringas estão corretas, separar adequadamente os animais em grupos e não misturar o grupo controle com os grupos experimentais.

#### **VII. Atividade 1 (preparo de amostras)**

- Realizar a paramentação de acordo com os EPIs descritos
- Preparar a cabine de segurança biológica, de acordo com o POP de Cabine de segurança biológica
- Colocar a estante de tubo cônico dentro da cabine de segurança biológica
- Acomodar os tubos cônicos que contenham a estirpe que será utilizada na infecção experimental na estante
- Baseado na contagem de leptospiros, realizar a diluição do antígeno, caso necessário, conforme indicado no POP de Contagem de leptospiros e preparo de antígenos
- Com uma seringa de 5ml e agulha hipodérmica, puxar o volume desejado do cultivo, baseado na diluição e no protocolo do experimento
- Identificar as seringas de acordo com cada antígeno a ser usado
- Acondicionar a seringa, sem agulha, na caixa de transporte

#### **VIII. Atividade 2 (antes da entrada nas baias)**

- Dispor todos os materiais necessários dentro da caixa de transporte e tampar a mesma;
- Antes da entrada nas baias deve-se realizar a paramentação com macacão e botas.
- A entrada será realizada em uma baia de paramentação, onde haverá uma divisão das áreas não-contaminada e contaminada. Neste local deve-se realizar a paramentação de luvas (dois pares em cada mão), gorro, óculos, gorro e avental.

#### **IX. Atividade 3 (entrada nas baias e infecção experimental)**

- A entrada nas baias deve ser cuidadosa, evitando o estresse e a saída dos animais
- Certificar-se de que a porta da baia está fechada
- A caixa de transporte de amostras deve ser apoiada em suportes dentro das baias e fora do alcance dos animais
- Conter cada animal de acordo o POP de Contenção
- Fazer as anotações dos dados do animal
- Antes da inoculação intraperitoneal, deve-se realizar a higienização e tricotomia da região do abdome direito, dorsal à região hipogástrica, com o uso do sabão e lâmina de barbear (Figura 1)
- **Não** deve-se realizar a antissepsia da região com álcool 70%. Deve-se apenas secar o local com papel toalha.
- Deve-se inserir uma agulha hipodérmica nas seringas com o antígeno.
- Antes da inoculação, deve-se fazer a verificação da presença de alças intestinais abaixo do local de tricotomia (área de inoculação) (Figura 2). Caso haja, deve-se aguardar a movimentação natural das alças até notar a ausência das mesmas na região. Não inocular o antígeno se houver alças intestinais no local.
- Para a inoculação pela via intraperitoneal deve-se inserir a agulha no local da tricotomia num ângulo de 90° em relação à pele do animal. A inserção da agulha não deve passar 2/3 do tamanho da mesma, com risco de atingir as alças intestinais (Figura 3).
- Antes de injetar o antígeno deve-se puxar o êmbolo da seringa para conferir a posição da agulha no peritônio.
- Injetar a antígeno rapidamente
- Não realiza antissepsia do local após a inoculação
- Descartar a seringa e agulha de acordo com POP de Lixo Laboratorial
- Marcar os animais inoculados com o bastão de cera

#### **X. Atividade 4 (saída das baias)**

- A saída das baias deve ocorrer de forma tranquila e organizada.
- Não deve-se dar as costas para os animais, evitando a fuga dos mesmos
- Conferir o fechamento da porta
- Realizar a desparamentação das luvas (apenas um par das mãos), gorro, máscara e óculos ainda na área contaminada.
- Descartar os materiais utilizados, incluindo os EPIs de acordo com POP de Lixo Laboratorial
- Fazer a descontaminação das botas com cal virgem
- Passar para a área não-contaminada após a desparamentação
- Descarta o segundo par de luvas, conforme descrito acima.

**Figura 1.** Área de tricotomia das ovelhas preparadas para a inoculação de leptospiras pela via intraperitoneal



**Figura 2.** Análise da presença de alças intestinais na área de inoculação do antígeno (área de tricotomia) pela via intraperitoneal.



**Figura 3.** Local e procedimento da inoculação do antígeno leptospírico nas ovelhas pela via intraperitoneal.

