

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

ÍNDICE

Introdução e advertências	3
1. OBJETIVO	4
2. ÂMBITO	4
3. REFERÊNCIAS	4
4. SIGLAS E DEFINIÇÕES	5
5. COLHEITA DE AMOSTRAS	6
5.1 Material	6
5.2 Equipamento para conservação das amostras	6
5.3 Colheita de amostras para diagnóstico serológico	6
5.3.1 Sangue.....	6
5.3.2 Leite	6
5.4 Colheita de amostras para diagnóstico bacteriológico	7
5.4.1 Colheita após o abate ou durante a necropsia (ver <u>Anexo 1</u> , com tabela indicativa das amostras a colher por espécie animal/género)	7
5.4.2 Leite / Colostro	7
5.4.3 Zaragatoas vaginais.....	7
5.4.4 Sêmen	8
5.4.5 Placenta.....	8
5.4.5 Feto	8
5.4.6 Abscessos, higromas ou exsudados de artrites	8
5.5 Identificação das amostras	8
5.5.1 Rotulagem das amostras de sangue/soro (serologia):	8
5.5.2 Rotulagem das amostras de leite (serologia):.....	9
5.5.3 Rotulagem das amostras destinadas à bacteriologia:	10
6. ENVIO DAS AMOSTRAS AO LABORATÓRIO E RECEÇÃO DAS AMOSTRAS.....	11
6.1. Envio das amostras	11
6.2. Receção das amostras no laboratório	11
7. EMISSÃO DE RESULTADOS.....	11
8. ANEXOS	11
Anexo 1 - Tabela indicativa das amostras a colher por espécie animal/género	12
Anexo 2 - Procedimentos para a colheita de amostras durante a necropsia	14
Anexo 3 - Comunicação de irregularidade(s) da(s) amostra(s).....	15

ALTERAÇÃO (ÕES) À ÚLTIMA VERSÃO:

Inclusão de nova legislação aplicável no ponto 3, da necessidade de procedimentos e controlo do envio das amostras no ponto 6 e do ponto 7 de dezembro de 2021

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

Introdução e advertências

Os métodos de diagnóstico, assim como a subsequente colheita de amostras para a sua realização, e as correspondentes técnicas, validação e interpretação, são de natureza muito técnica e estão sujeitos a alterações frequentes devido à evolução das normas científicas.

A Lei da Saúde Animal estabelece regras de prevenção e controlo das doenças animais transmissíveis aos animais ou aos seres humanos. Com a entrada em vigor a 21 de abril de 2021, do Regulamento delegado (UE) 2020/689 da Comissão de 17 de dezembro de 2019 que complementa o Regulamento (UE) 2016/429 do Parlamento Europeu e do Conselho no que diz respeito a regras em matéria de vigilância, programas de erradicação e estatuto de indemnidade de doença para certas doenças listadas e doenças emergentes, urge uma atualização dos procedimentos anteriormente divulgados.

No Regulamento de Execução (UE) 2018/1882 da Comissão, a infeção por *Brucella abortus*, *B. melitensis* e *B. suis* estão listadas como doenças a submeter a programas de erradicação obrigatórios.

Brucella é classificada pela O.M.S. como pertencente ao grupo de perigosidade III o que indica um alto risco de contágio para o operador envolvido. Sendo considerada uma doença profissional para os operadores envolvidos nas operações de abate como os médicos veterinários e os auxiliares oficiais e outros profissionais que lidam com os animais potencialmente infetados.

O material colhido para a pesquisa de *Brucella* é suscetível de causar infeção no Homem, pelo que devem ser tomadas todas as precauções de proteção individual (uso botas de borracha, luvas, batas ou fato macaco, óculos de proteção e máscara no momento da colheita) e de assepsia (material descontaminado e descartável) durante o ato de colheita e no envio ao laboratório (acondicionamento das amostras).

Para o diagnóstico laboratorial ser realizado com sucesso, é importante uma boa anamnese, suspeita clínica fundamentada e amostra colhida corretamente. A qualidade da amostra recebida é essencial para o diagnóstico. A colheita e o transporte inadequados dificultam ou podem mesmo inviabilizar o isolamento do agente etiológico e o diagnóstico da doença.

Na colheita de amostras em animais vivos deve-se sempre mudar as luvas, de animal para animal.

As amostras de órgãos, tecidos e outras matrizes para ao diagnóstico bacteriológico (isolamento de *Brucella* spp), devem ser colhidas com material esterilizado e preferencialmente descartável. O material de recolha nunca deve ser utilizado em mais do que um animal amostrado para evitar a ocorrência de contaminações cruzadas e posteriores resultados falsos positivos.

O material descartável utilizado na colheita, deverá ser colocado num contentor para resíduos biológicos e posteriormente enviado para destruição.

O material não descartável utilizado na colheita (tesouras e pinças metálicas), deverá ser submetido a descontaminação química, tendo em conta a concentração das soluções de desinfetante e o tempo de atuação destas soluções e posteriormente deverá ser lavado e descontaminado.

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

As amostras entregues aos laboratórios devem ser consideradas não conformes e não serão realizadas, caso apresentem as seguintes irregularidades:

- Amostras de sangue em tubos com as agulhas de colheita acopladas e não protegidas adequadamente;
- Amostras em tubos ou outros contentores partidos;
- Amostras com o conteúdo derramado;
- Amostra de sangue em quantidade insuficiente (inferior a 0,5 ml);
- Amostras de sangue ou leite não identificadas com o número de ordem e número de identificação individual do animal (marca auricular);
- Amostras sem referência da marca oficial de exploração (ME);
- Amostras coletivas de leite de tanque sem identificação do n.º do tanque, quando recolhidas mais de que uma amostra numa exploração;
- Amostras para exame bacteriológico, acondicionadas em sacos plásticos e não em copos de colheita.

As amostras entregues aos laboratórios sem o devido acondicionamento, como tubos em sacos de plástico e sem suporte ou amostras para exame bacteriológico, em sacos plásticos e não em copos de colheita, podem não ser analisadas, consoante o estado em que as amostras se encontram.

1. OBJETIVO

Fixar a metodologia de colheita e envio de amostras para diagnóstico bacteriológico e/ou diagnóstico serológico da brucelose, incluindo a descrição do sistema de recolha desse material. São responsáveis pelas colheitas, acondicionamento e envio das amostras para o laboratório, os médicos veterinários ou outros técnicos, sob sua supervisão.

2. ÂMBITO

Aplica-se a amostras provenientes de animais vivos ou abatidos, colhido no âmbito ou não do Plano de Erradicação e de Vigilância da Brucelose e a amostras para movimentação animal (importação/exportação).

3. REFERÊNCIAS

Regulamento (UE) 2016/429 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 9 de março de 2016, relativo às doenças animais transmissíveis e que revoga determinados atos no domínio da saúde animal («Lei da Saúde Animal») e respetivos atos delegados e de execução, nomeadamente o Regulamento Delegado (UE) 2020/689 de 17 de dezembro de 2019.

Manual das Provas de Diagnóstico e Vacinas para os animais terrestres, da OIE;

Manual de procedimentos para a classificação sanitária de efetivos no âmbito dos programas de erradicação da tuberculose, brucelose e leucose enzoótica bovinas e da brucelose dos pequenos ruminantes, ~~versão de 2018~~, da DGAV;

Barberán, M.; Blasco, J.M. (2018). Obtencion de muestras para confirmacion de Brucelosis. Facultad de Veterinaria – Universidad de Zaragoza. Apresentação no Workshop - Brucelose dos pequenos ruminantes: diagnóstico e fatores críticos para a erradicação. UTAD, 21 de março de 2018.

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

4. SIGLAS E DEFINIÇÕES

DGAV – Direção Geral de Alimentação e Veterinária;

ELISA (Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay) – Teste imunoenzimático que permite a deteção de anticorpos específicos;

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária;

ME – Marca da Exploração;

OIE – Organização Mundial de Saúde Animal;

OMS – Organização Mundial da Saúde;

PISA.Net – Programa informático de Saúde Animal;

LN – Linfonodos.

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

5. COLHEITA DE AMOSTRAS

5.1 Material

1. Tesouras, facas/bisturis e pinças preferencialmente descartáveis ou em inox e esterilizados;
2. Frascos/copos de colheita, com capacidades de 50 e 100 ml, em polipropileno, descartáveis, esterilizados individualmente com tampa de rosca vedante;
3. Sacos de plástico de utilização única e em polipropileno;
4. Zaragatoas estéreis, contidas em tubos próprios com tampa de rosca e com meio de transporte;
5. Seringa com agulha ou tubo de vácuo e agulha, descartável, próprio para colheita de sangue;
6. Tubos de hemólise com tampa de rosca (12 mm/ 70 mm), preferencialmente em poliestireno ou outro material que facilite a coagulação do sangue;
7. Rótulos e caneta para identificação das amostras;
8. Caixa térmica e termoacumuladores.

5.2 Equipamento para conservação das amostras

- Frigorífico ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$);
- Arca congeladora (Temperatura máxima de $\leq -16^{\circ}\text{C}$).

5.3 Colheita de amostras para diagnóstico serológico

5.3.1 Sangue

- O sangue deve obter-se mediante veno-punção do animal, variando as vias de acesso com a espécie e o tamanho do animal. A colheita pela veia jugular é o local mais adequado para análises hematológicas na maioria das espécies. Os vasos de eleição são:
 - Ruminantes: veia jugular, veia coccígea média e a veia mamária;
 - Suínos: veia jugular, veia cava anterior, a veia coccígea e a veia cefálica.A quantidade de sangue recolhido não deve ser superior a $2/3$ da capacidade do tubo nem inferior a 0,5 ml. Os tubos devem ser devidamente identificados de acordo com o ponto (5.5);
- Deixar as amostras de sangue à temperatura ambiente protegidas do calor excessivo, até que o coágulo se forme e comece a retrair;
- Após observação do coágulo, as amostras deverão ser refrigeradas ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$) e enviadas para o Laboratório preferencialmente até 72 horas após a colheita, sujeitas à rejeição se a sua qualidade for comprometida quando ultrapassado este prazo;
- Caso não seja possível o envio para o Laboratório até 72 horas após colheita, o soro pode ser transferido para novo tubo e congelado ($\leq -16^{\circ}\text{C}$). O sangue inteiro não pode ser congelado.

5.3.2 Leite

A pesquisa de anticorpos anti-*Brucella* (ensaio ELISA) apenas se efetua em leite de bovinos; estas amostras deverão ser colhidas para frascos/tubos de hemólise descartáveis e com tampa de rosca.

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

A colheita deve ser efetuada em leites provenientes do tanque de mistura que apenas contenham leite de bovino e de uma única exploração, num máximo de 200 animais.

A recolha de amostra de leites a partir do tanque requer uma agitação suficiente para promover a homogeneização adequada dos componentes do leite (gordura, proteína e lactose), devendo ser constatado o funcionamento adequado do sistema de homogeneização próprio do tanque.

- Recolher cerca de 3 ml de leite para um tubo de hemólise, não excedendo a quantidade de 2/3 da capacidade do tubo e rolar;
- Identificar a amostra com o rótulo 3 de acordo com o ponto (5.5);
- O leite é refrigerado ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$) e enviado para o laboratório até 24 horas após a colheita; caso contrário, deverá ser congelado ($\leq - 16^{\circ}\text{C}$).

5.4 Colheita de amostras para diagnóstico bacteriológico

5.4.1 Colheita após o abate ou durante a necropsia (ver [Anexo 1](#), com tabela indicativa das amostras a colher por espécie animal/género)

- Efetuar as colheitas com o auxílio de utensílios preferencialmente descartáveis (tesoura/faca/bisturi e pinça), um conjunto por animal; sempre que se utilizar utensílios em inox esterilizados, lavar e descontaminar os utensílios utilizados, entre cada animal objeto de colheita;
- Colocar as amostras em frascos (os linfonodos devem ficar em frasco separado), identificados com o rótulo 1 e acondicionados em saco plástico, por animal, com o rótulo 2 de acordo com o ponto (5.5);
- Não enviar órgãos não especificados no Anexo 1;
- As amostras devem ser refrigeradas ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$) e expedidas no próprio dia ao laboratório; caso não seja possível o seu envio imediato, deverão ser congeladas ($\leq - 16^{\circ}\text{C}$).

O [Anexo 2](#) apresenta os “Procedimentos para a colheita de amostras durante a necropsia” para a extração dos linfonodos e órgãos reprodutores.

5.4.2 Leite / Colostro

- A colheita é efetuada na totalidade dos tetos dos animais;
- Proceder à lavagem, desinfeção e secagem dos tetos. Os dois primeiros jatos de leite devem ser eliminados e só depois se retira a amostra;
- Colher cerca de 10 ml de cada teto para um frasco estéril e rolar;
- Identificar as amostras de acordo com o ponto (5.5);
- As amostras são refrigeradas ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$) e enviadas no próprio dia para o laboratório; caso não seja possível o seu envio imediato, deverão ser congeladas ($\leq - 16^{\circ}\text{C}$).

5.4.3 Zaragatoas vaginais

- Antes de iniciar a colheita, lavar a vulva e períneo com sabão/detergente e enxaguar;
- Com o auxílio de uma zaragatoa estéril, recolher as secreções passando nas paredes e no fundo da cavidade vaginal; deve evitar-se o contacto da zaragatoa com zona externa da vulva;
- Identificar as zaragatoas de acordo com o ponto (5.5);

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

- Refrigerar a ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$) e enviar o mais rapidamente possível para o laboratório (nas 24 horas seguintes à colheita).

5.4.4 Sémén

- A colheita deve efetuar-se assepticamente para um tubo estéril bem rolhado e identificado, de acordo com o ponto (5.5);
- A amostra é enviada para o laboratório refrigerada ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$).

5.4.5 Placenta

- Colher com o auxílio de material esterilizado, pedaços com 2-3 cm para um frasco de colheita e rolhar; no caso dos ruminantes, colher um fragmento que contenha vários cotilédones, de preferência com lesões expressas (tom amarelo acinzentado, característico da infeção);
- Identificar a amostra de acordo com o ponto (5.5);
- Refrigerar a amostra ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$) e expedir no próprio dia ao laboratório; caso não seja possível o envio imediato, deverá ser congelada ($\leq - 16^{\circ}\text{C}$).

5.4.5 Feto

- Este tipo de amostra poderá ser enviado inteiro para o laboratório, acondicionado dentro de saco plástico de utilização única, bem vedado. Pode enviar-se também o seu estômago colhido na sua totalidade e entre duas ligaduras fortemente apertadas, uma a nível do piloro, outra a nível do cárdia;
- No caso de se pretender enviar apenas o conteúdo gástrico retirar uma amostra com uma pipeta de Pasteur para um frasco esterilizado (após cauterização do local da punção da parede com uma espátula incandescente). Colher também pequenas porções do fígado, pulmão e baço ou ainda órgãos genitais, linfonodos ou cérebro (se o restante material se encontrar muito alterado);
- As amostras são refrigeradas ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$) e expedidas no próprio dia ao Laboratório; caso não seja possível o envio imediato, deverão ser congeladas ($\leq - 16^{\circ}\text{C}$).

5.4.6 Abscessos, higromas ou exsudados de artrites

- Colher por punção asséptica com seringa e depois transferir para um tubo estéril;
- Refrigerar as amostras ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$) e expedir no próprio dia para o laboratório; caso não seja possível o envio imediato, deverão ser congeladas ($\leq - 16^{\circ}\text{C}$).

5.5 Identificação das amostras

5.5.1 Rotulagem das amostras de sangue/soro (serologia):

As amostras de um mesmo proprietário / exploração, são identificadas individualmente com o **Rótulo 1** indicando com o número de ordem da colheita e o código de identificação individual do animal (marca auricular no caso dos ruminantes e tatuagem no caso dos suínos). O conjunto das amostras por espécie deve ser colocado em suporte(s) apropriado(s) acondicionado(s) num saco bem vedado identificado com o **Rótulo 2**. Sendo colhida apenas uma única amostra de sangue na exploração, esta será identificada com o **Rótulo 3**.

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

Amostra individual/ sangue:

Código de identificação do animal:	N.º ordem:
------------------------------------	------------

Rótulo 1

Conjunto de amostras/ sangue/ espécie:

Espécie:	Data da colheita: / /
Tipo da amostra: N.º total:	Marca da exploração (ME):
Responsável pela colheita:	Requisição n.º:

Rótulo 2

Amostra única/ sangue:

Espécie: Marca auricular:	Data da colheita: / /
Tipo da amostra:	Marca da exploração (ME):
Responsável pela colheita:	Requisição n.º:

Rótulo 3

5.5.2 Rotulagem das amostras de leite (serologia):

As amostras de um mesmo proprietário/exploração, ou caso se trate de amostra única, são identificadas individualmente com o **Rótulo 4** indicando a marca da exploração (ME), data de colheita, referência/ n.º do tanque de colheita, caso efetuada colheita em mais do que um tanque. O conjunto das amostras deve ser colocado em suporte(s) apropriado(s) acondicionado(s) num saco bem vedado identificado com o **Rótulo 5**.

Amostra de leite:

N.º de tanque:
Data da colheita: ___ / ___ / ___
Marca da exploração (ME):

Rótulo 4

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

Conjunto de amostras/ leite:

Rótulo 5

Tipo da amostra:	Data da colheita: _ / _ / _
Total de mostras:	Marca da exploração (ME):
Responsável pela colheita:	Requisição nº:

5.5.3 Rotulagem das amostras destinadas à bacteriologia:

5.5.3.1 As amostras são colocadas separadamente em copos de colheita e identificadas com o Rótulo 6.

Espécie:	Identificação do animal: Nº ordem:
Amostra:	Proprietário/ Marca exploração (ME):

Rótulo 6

5.5.3.2 O conjunto dos copos referentes a cada requisição é acondicionado num saco bem vedado. Este deverá ser identificado com um Rótulo 7.

Proprietário: Marca exploração (ME):	Requisição nº:
Espécie: Identificação:	Responsável:
Amostra:	Data de colheita: / /

Rótulo 7

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

6. ENVIO DAS AMOSTRAS AO LABORATÓRIO E RECEÇÃO DAS AMOSTRAS

6.1. Envio das amostras

As amostras depois de devidamente rotuladas e acondicionadas, são enviadas ao laboratório, acompanhadas das folhas de requisição para análises, disponíveis em www.iniaiv.pt ou das folhas de requisição do PISA.Net.

Ainda no âmbito da recolha dos sangues deverá ser seguido o **procedimento**, em caso de existência de local de recolha, onde conste os seguintes itens:

- Identificação do local;
- Dias da semana e horas em que se efetuará a recolha das amostras;
- Registo de entregas (data, tipo, quantidade e pessoa que entregou as amostras);
- Indicação do meio de transporte utilizado (se o próprio, uma transportadora contratada, veículo refrigerado ou outro tipo de transporte que garanta a manutenção da qualidade das amostras);
- Registos de temperaturas do equipamento do local de recolha.

O transporte das amostras deve ser realizado em frio ou a temperatura adequada à conservação das mesmas, sendo as amostras acondicionadas de forma a manter a sua qualidade.

6.2. Receção das amostras no laboratório

A qualidade da amostra que chega ao laboratório é essencial para o diagnóstico pelo que é realizada a avaliação da sua conformidade de acordo com as regras do presente Manual. As amostras que apresentarem o conjunto de irregularidades que se indicam na ficha de registo constante do **Anexo 3**, podem ser sujeitas a suspensão ou rejeição por parte do Laboratório, que informará o organismo que submete as amostras das causas da rejeição.

7. EMISSÃO DE RESULTADOS

O Laboratório deve preparar um procedimento a informar sobre a metodologia da gestão das amostras desde a entrada no laboratório até à emissão dos resultados, o qual deve ser periodicamente atualizado.

8. ANEXOS

Anexo 1. Tabela indicativa das amostras a colher por espécie animal/género

Anexo 2. Procedimentos de colheita de amostras durante a necropsia

Anexo 3. Comunicação de irregularidade(s) da(s) amostra(s)

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

Anexo 1 - Tabela indicativa das amostras a colher por espécie animal/género

Região do corpo	Amostras a colher	Espécie/Género			
		Ruminantes		Suíno	
		♀	♂	♀	♂
Zona da cabeça	LN Mandibulares (sub-maxilares)	◆	◆	◆	◆
	LN Parotídeos	◆	◆		
	LN Retrofaríngeos	◆	◆	◆	◆
Zona dos membros anteriores	LN Pré escapulares (cervicais superficiais)	◆	◆	◆	◆
Zona dos membros posteriores	LN Femurais (pré-curais ou subilíacos)	◆	◆	◆	◆
Zona do aparelho reprodutor	LN Retromamários (inguinais superficiais)	◆			
	LN Escrotais (inguinais superficiais)		◆		
Cavidade abdominal	LN Ilíacos	◆	◆	◆	◆
Outros órgãos ou produtos	Baço	◆	◆	◆	◆
	Glândula mamária (removida a gordura)	◆			
	Leite	◆		◆	
	Útero	◆			
	Testículo		◆		
	Cauda do Epidídimo		◆		
	Vesículas seminais e Glândulas acessórias		◇		

Legenda: Linfonodos (LN) ◆ órgãos a colher; ◇ também podem ser colhidos.

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

NOTA: A pesquisa de *B. ovis* (Epididimite Contagiosa Ovina) é efetuada em amostras de carneiros e, para além dos linfonodos, aconselha-se a colheita de testículo, epidídimo e vesículas seminais. Estas amostras deverão ser refrigeradas (5 ± 3 °C) e enviadas o mais rapidamente possível para o Laboratório. **Não podem ser congeladas.**

PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE

Anexo 2 - Procedimentos para a colheita de amostras durante a necropsia

Na necropsia, o cadáver deve ser colocado em decúbito dorsal ou em decúbito lateral direito. Os linfonodos (LN) devem ser enviados para o laboratório já limpos de toda a gordura envolvente.

- Recolha dos LN da cabeça (mandibulares, parotídeos e retrofaríngeos):
 1. Fazer um corte longitudinal da pele pela linha média, desde o maxilar inferior até a meio do pescoço, separando a pele da cabeça e início do pescoço;
 2. Começar por extrair os LN mandibulares de ambos os lados (1 a 2 de cada lado);
 3. Seguidamente separar com cuidado a glândula parotídea a fim de expor e extrair os LN parotídeos de ambos os lados;
 4. Acedendo pela parte média do pescoço, cortar o esófago e traqueia separando-as até à mandíbula a fim de se localizar e extrair os LN retrofaríngeos na face interna do ângulo da mandíbula de ambos os lados.
- Recolha dos LN dos membros anteriores (pré-escapulares ou cervicais superficiais):
 1. Separar os dois membros anteriores do tronco, cortando a pele e os músculos;
 2. Localizar e extrair os LN pré-escapulares no bordo anterior da escápula ou na gordura junto ao músculo supra espinhoso.
- Recolha dos LN dos membros posteriores femurais (pré-curais ou sub-ilíacos):
 1. Separar os dois membros posteriores do tronco, cortando a pele e os músculos;
 2. Localizar e extrair os LN femurais no bordo antero-lateral do músculo.
- Recolha dos LN da mama (retromamários): Extrair a mama e localizar e extrair os LN retromamários na parte caudal da mama. Em fêmeas não lactantes são apenas recolhidos os LN.
- Recolha da glândula mamária: Cortar a glândula mamária e recolher uma porção.
- Recolha do baço:
 1. Cortar a pele e a parede ventral pela linha mediano sentido da pélvis para a região craneal evitando abrir o menos possível a mim de que os restantes órgão não possam sair da cavidade;
 2. Localizar o baço entre o diafragma e o rúmen através de palpação e extraí-lo suavemente para evitar roturas (por tração). Cortar pequena porção da zona média (cerca de 2 dedos de largura).
- Recolha dos LN da cavidade abdominal: Separar parte do final/posterior do aparelho digestivo para localizar e extrair os **LN ilíacos** que se encontram junto à veia cava posterior e à bifurcação das ilíacas.
- Recolha dos LN escrotais: Localizar e extrair os LN escrotais que se encontram situados no extremo abdominal da bolsa escrotal.
- Recolha dos órgãos reprodutores masculinos (cauda do epidídimo, vesículas seminais e glândulas acessórias (essencial para *B. ovis*):
 1. Extrair os testículos da bolsa escrotal, cortar e extrair a cauda do epidídimo eliminando o testículo e resto do epidídimo;
 2. Localizar e extrair as vesículas seminais e ampolas do conduto deferente situadas junto à bexiga.
- Recolha dos órgãos reprodutores femininos (útero): Localizar o útero situado junto à bexiga, extrair e recolher uma porção.

**PROCEDIMENTO DE REFERÊNCIA PARA COLHEITA DE AMOSTRAS
DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DA BRUCELOSE**

Anexo 3 - Comunicação de irregularidade(s) da(s) amostra(s)

COMUNICAÇÃO DE IRREGULARIDADE DA(S) AMOSTRA(S) do Dia: ___/___/___

Local de Recepção/Laboratório		Nº de Análise atribuído à folha de campo/ Requisição	
Tipo de Amostra		Espécie animal	
Cliente		Plano Oficial	
Data de colheita/Intervenção		Responsável pela colheita (OPP/ADS/ Inspetor sanitário)	
		Marca da Exploração	

Solicita-se retificação/esclarecimento sobre as seguintes irregularidades verificadas na(s) amostra acima identificada, no prazo máximo de 24 horas

- Amostras de sangue em tubos com as agulhas de colheita acopladas e não protegidas adequadamente;
- Amostras acondicionadas em sacos de plástico, sem suporte;
- Amostras em tubos partidos;
- Amostras com o conteúdo derramado;
- Amostra em quantidade insuficiente (inferior a 5 ml);
- Amostras de sangue não identificadas com o número de ordem e número de identificação individual (marca auricular) do animal, com rótulos ilegíveis ou sem rótulos;
- Amostras de leite sem identificação do n.º do tanque, quando recolhidas mais do que uma amostra numa exploração;
- Amostras para exame bacteriológico colhidas em sacos plásticos não adequados (ponto 5.1., 3. do Manual de Colheitas de Amostras (LNR 03 (2021-12-17)));
- ¹Amostras de linfonodos e órgãos em falta, para exame bacteriológico, a colher por espécie animal/género conforme indicado na tabela do anexo 1 do LNR 03 (2021-12-17);
- Amostras sem referência da marca oficial de exploração (ME) e/ou da classificação sanitária.
- Outra: _____

Informa-se que o vosso pedido de análise foi rejeitado.

Informa-se que o vosso pedido de análise está suspenso até recebermos os dados e esclarecimentos solicitados.

Agradecemos desde já toda a colaboração

O Responsável pela Recepção _____

Responsável técnico do laboratório: _____

¹ *Esta irregularidade não implica a suspensão ou rejeição da amostra*