

## INSTRUÇÕES PARA A COLHEITA, ACONDICIONAMENTO E ENTREGA DE AMOSTRAS

(ANEXO 6 DO PLANO DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA EM CAÇA MAIOR)

### 1. Colheita de linfonodos

Com a ajuda da lâmina de bisturi, colher de cada animal o(s) linfonodos com lesões suspeitas e colocá-lo(s) num dos copos de colheita, fechando bem a tampa. Preencher a etiqueta de acordo com as instruções do ponto 5. Cada copo de colheita deve conter apenas o(s) linfonodo(s) de um único animal.

### 2. Colheita de músculo

Com a ajuda da lâmina de bisturi, recolher de cada javali uma porção de músculo com cerca de 50 gr ou com o tamanho aproximado de 15 x 4 cm, de preferência do diafragma (idealmente os pilares do diafragma ou as partes junto às costelas - Figura 1) ou dos músculos intercostais. A amostra deve ser colocada num dos copos de colheita, que deve seguidamente ser bem fechado e etiquetado de acordo com as instruções do ponto 5. Cada copo de colheita deve conter apenas a porção de músculo de um único javali.

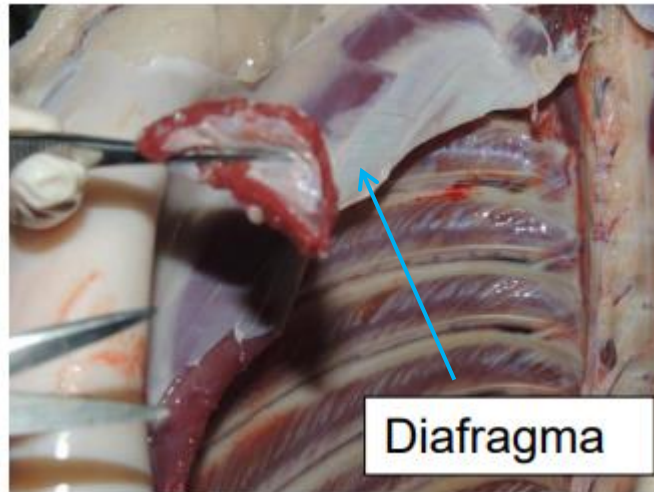


Figura 1 - Colheita de músculo do diafragma (adaptado de: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/arquivos-endesa/06.12/bloco-animais-selvagens/3-triquinelose-em-javali-no-brasil-virginia-santiago.pdf>)

### 3. Colheita de sangue

Com a ajuda da seringa e da agulha, aspirar 1 a 2 ml de sangue do coração ou da cavidade torácica. Seguidamente, proteger a agulha com a tampa, retirá-la da seringa e verter o sangue num tubo de colheita. Fechar bem o tubo com a tampa e preencher a etiqueta de acordo com as instruções do ponto 5. Quando o sangue é colhido para soro (tubo seco) não agitar o tubo. Cada tubo de colheita deve conter apenas o sangue de um único animal.

#### 4. Colheita de tronco cerebral e linfonodos retrofaríngeos em cervídeos

Após notificação aos serviços veterinários e caso haja indicação para proceder à colheita de amostras em cervídeos encontrados mortos, proceder ao corte da cabeça do animal a amostrar através de uma linha de incisão que começa no ângulo da mandíbula e termina junto à face posterior dos pavilhões auriculares (Figura 2).

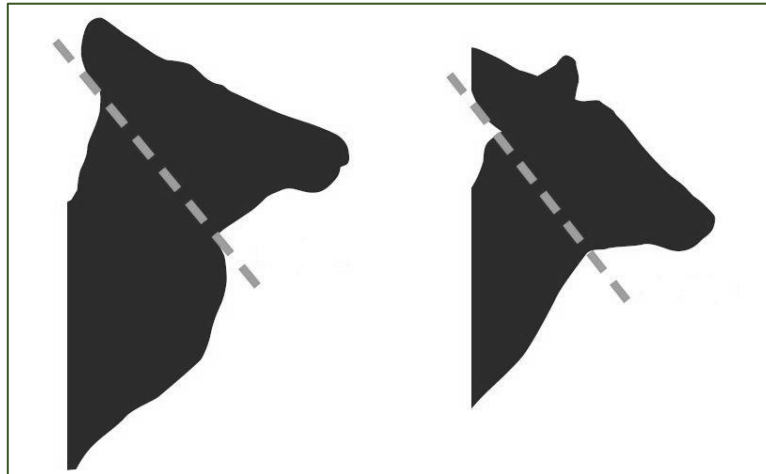


Figura 2 - Zona de corte da cabeça para colheita de tronco cerebral (fonte: “Chronic Wasting Disease – a step by step guide” – Minnesota Board of Animal Health – disponível em <https://www.bah.state.mn.us/media/cwd-sampling-guide.pdf>)

Colocar o crânio de modo a que a mandíbula fique virada para cima e o *foramen magnum* dirigido para o operador (Figura 3) e proceder à recolha do tronco cerebral/medula espinhal cervical, através do *foramen magnum*, por meio de uma colher especialmente concebida para o efeito (Figura 4).

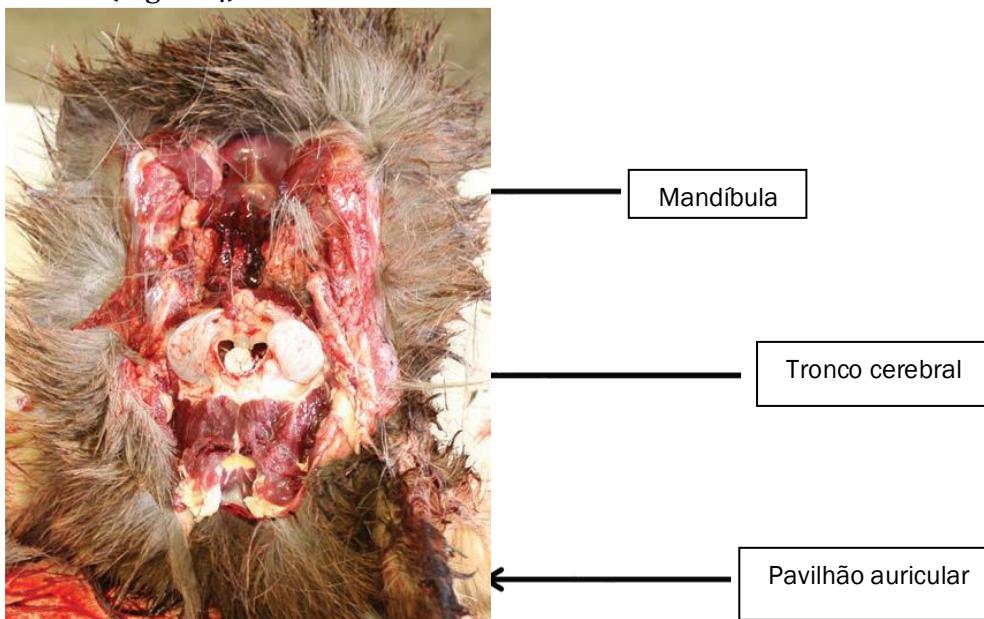
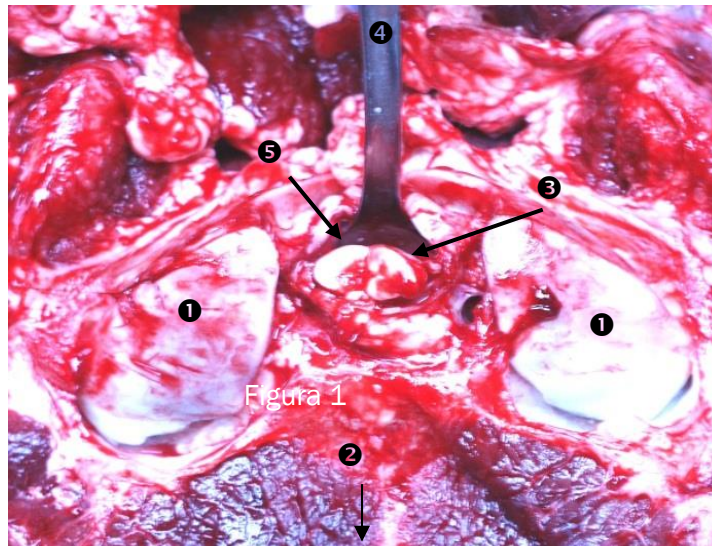


Figura 3 - Localização do tronco cerebral em cervídeo (fonte: “Chronic Wasting Disease – a step by step guide” – Minnesota Board of Animal Health – disponível em <https://www.bah.state.mn.us/media/cwd-sampling-guide.pdf>)



**Figura 4 - (1) Cêndilos occipitais; (2) Topo da cabeça; (3) Medula Espinhal; (4) Colher de colheita de amostra; (5) Ponto de inserção da colher (Fonte: Procedimento de referência para colheita de tronco cerebral e cerebelo de ruminantes para o rastreio das encefalopatias espongiformes transmissíveis – INIAV, I.P.)**

Desbridar, com o dedo, as ligações à volta da medula espinhal e introduzir a colher de colheita no *foramen magnum* (Figura 4) até sentir que não avança mais. Rodar a colher para a esquerda e para a direita, sem nunca dar a volta total, de forma a libertar totalmente o tronco cerebral. Puxar a colher de forma a trazer o tronco cerebral para o exterior.

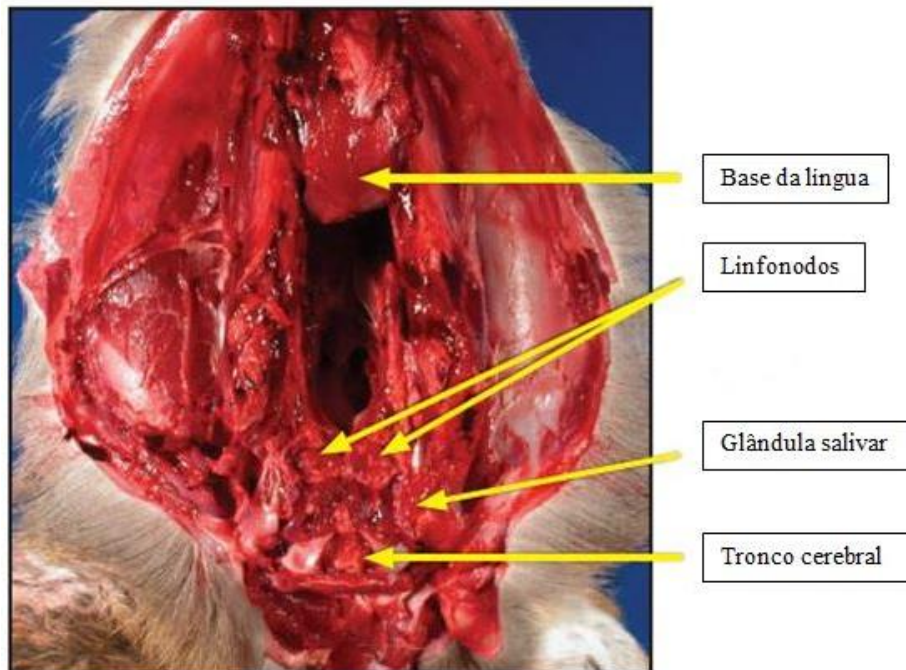
A amostra é uma porção de tronco cerebral/medula espinhal cervical, com cerca de 8 cm de comprimento (Figura 5). Caso a entrega no laboratório seja efetuada no prazo de 24 horas após a colheita, colocar a totalidade da amostra no copo e manter a temperatura de refrigeração (2-8°C). Se tal não for possível, proceder à sua congelação.



**Figura 5 - Amostra de tronco cerebral (Fonte: Procedimento de referência para colheita de tronco cerebral e cerebelo de ruminantes para o rastreio das encefalopatias espongiformes transmissíveis – INIAV, I.P.)**

Os linfonodos retrofaríngeos laterais localizam-se perto da linha média, na zona posterior da cavidade bucal junto à faringe e usualmente encontram-se sob músculo, gordura e glândulas salivares (Figura 6).

Após a colheita deverão ser mantidos sob refrigeração se não decorrerem mais de 24 horas até à entrega no laboratório. Caso contrário, deverá proceder-se à sua congelação.



**Figura 6 - Localização dos linfonodos retrofaríngeos laterais em cervídeos** (Adaptado de “Chronic Wasting Disease – a step by step guide” – Minnesota Board of Animal Health – disponível em <https://www.bah.state.mn.us/media/cwd-sampling-guide.pdf>)

## 5. Identificação, conservação e entrega das amostras

Cada tubo ou copo deve conter apenas amostras colhidas de um só animal e devem ser identificados pela aposição de etiqueta com as seguintes indicações (Figura 7):

- Data da colheita
- N° Selo do ICNF

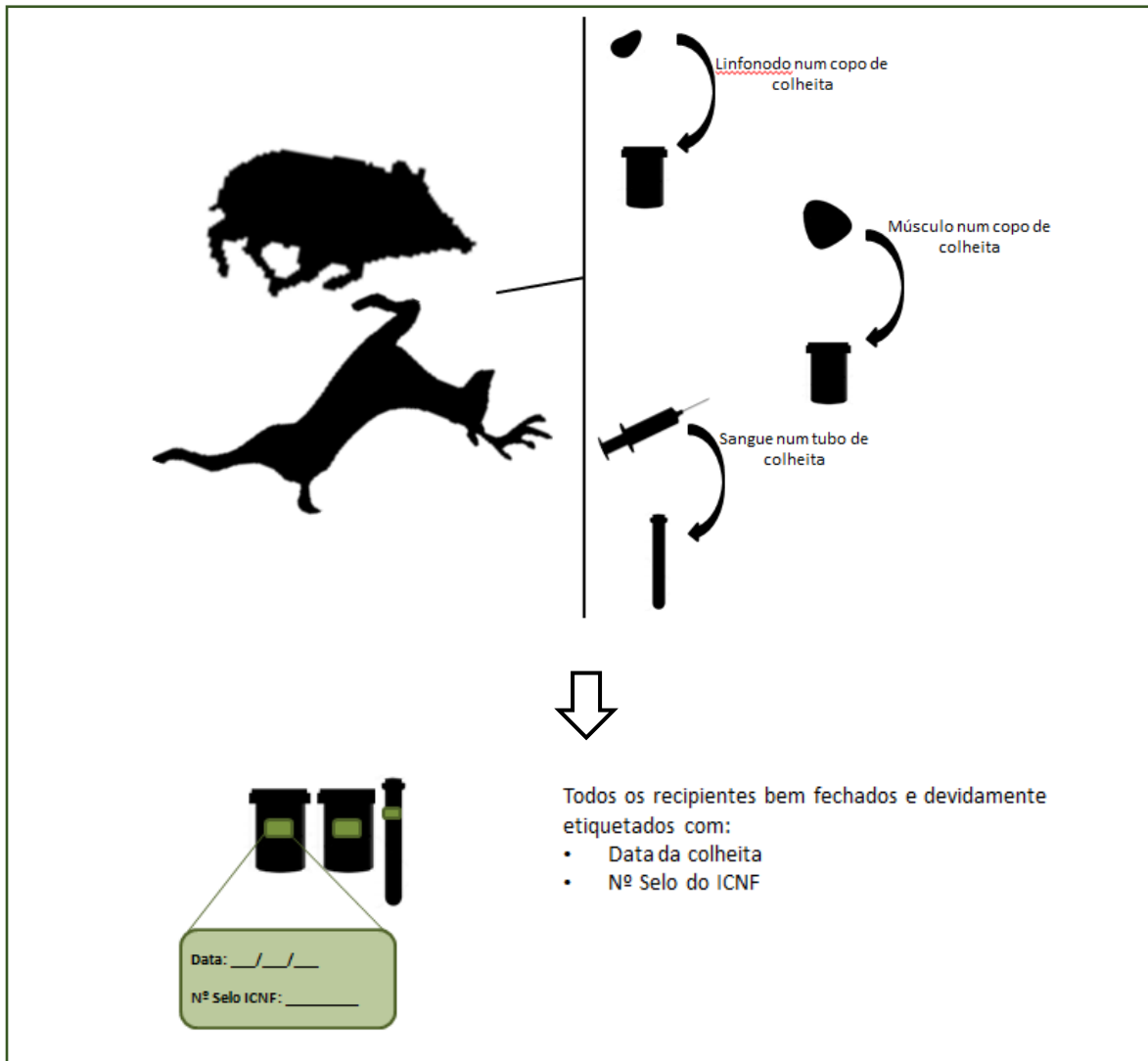


Figura 7 - Colheita e identificação de amostras

No final das colheitas, todas as amostras devem ser colocadas num saco de plástico juntamente com a folha de requisição respetiva (Figura 8). O saco deve ser etiquetado com as seguintes indicações:

- Data da colheita
- Nº da Zona de Caça



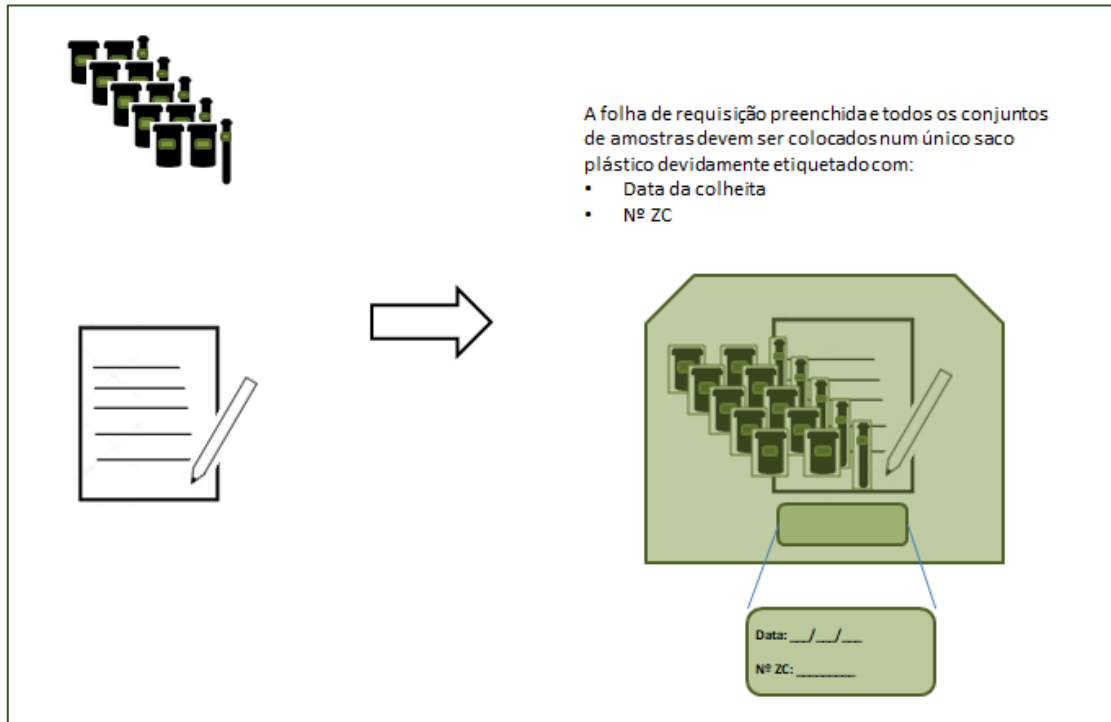


Figura 8 - Identificação e acondicionamento das amostras

Terminada a colheita de amostras, o material utilizado deve ser colocado num saco de plástico (Figura 9) e entregue juntamente com as amostras num dos locais de entrega indicados no Anexo 4 do PVSCM 2022 (Figura 10).

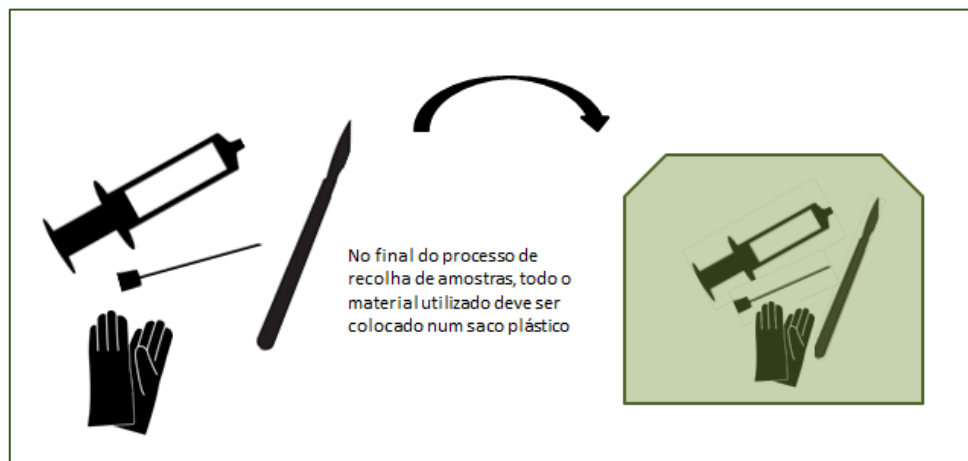


Figura 9 - Eliminação do material descartável

As amostras devem ser acondicionadas em frio e entregues, com a respetiva folha de requisição e o material descartável, num dos locais de entrega constantes no Anexo 4 do PVSCM 2022 no prazo máximo de 72 horas (Figura 10).

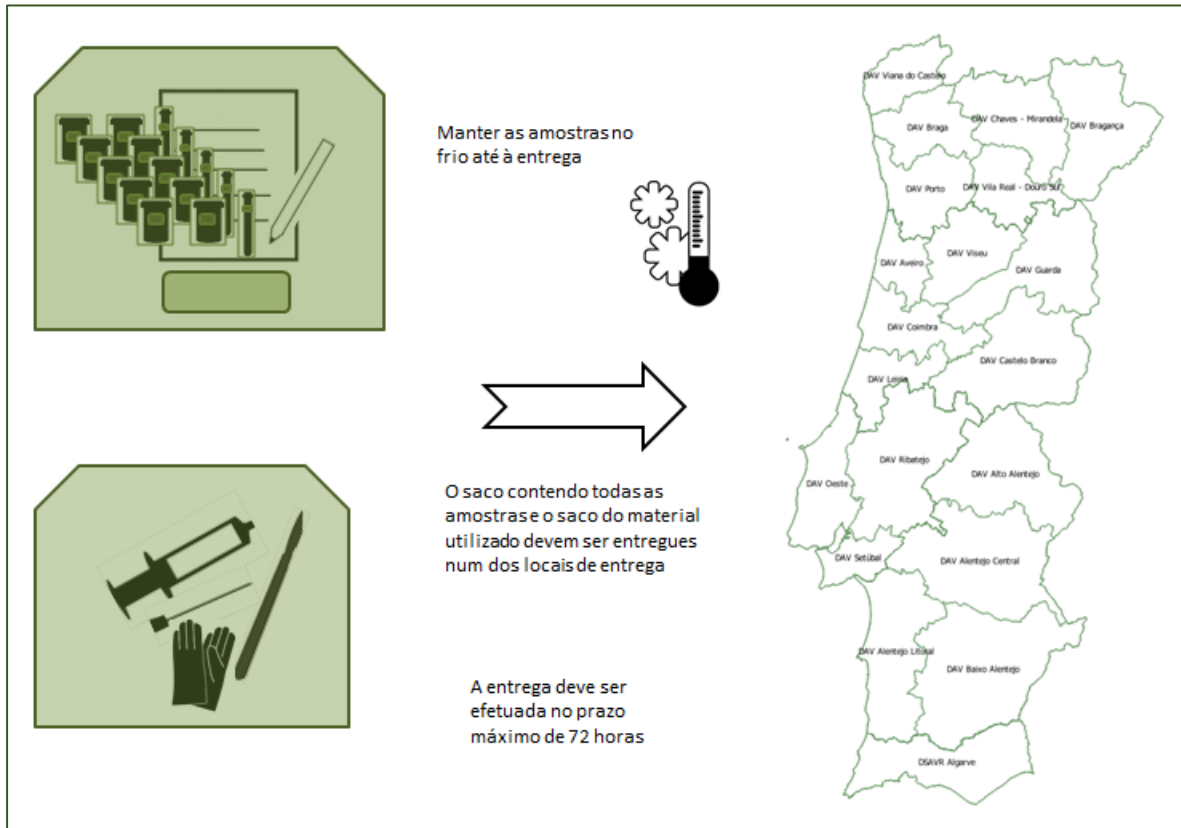


Figura 10 - Entrega do material