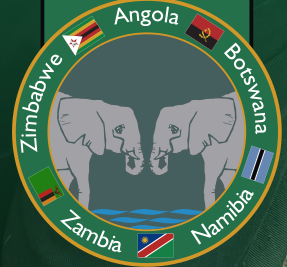


kaza

Kavango Zambezi Trans Frontier
Conservation Area



Protocolo para a recolha de amostras de doenças importantes da fauna selvagem na Área de Conservação Transfronteiriça do Kavango-Zambeze

Resumo, Técnica Prática de Campo,
com ênfase nos elefantes

Este protocolo foi elaborado com o apoio financeiro do Projecto *VukaNow* da USAID pelo Dr. Chris Foggin, do Victoria Falls Wildlife Trust, em 2021. Foi posteriormente revisto pelos membros do Subgrupo de Trabalho de Saúde Animal do KAZA e considerado relevante para divulgação e utilização como guia de campo para veterinários e seus assistentes.

A equipa gostaria de agradecer o valioso apoio e a contribuição de Chris Foggin para esta publicação.

Foto da capa © Laura Rosen



Índice

Introdução	4
Antes da implantação	4
Equipamento de manutenção	4
EPI, além de outro equipamento pessoal e de proteção contra riscos biológicos	4
Equipamento de amostragem e registo	5
No terreno – Procedimento de gestão de projectos	5
Atenção aos detalhes de antecedentes	5
Avaliação inicial da carcaça e arredores	6
Exame superficial	6
Abertura da carcaça	7
Remoção e exame macroscópico dos órgãos	8
Procedimentos de amostragem	9
A. Considerações gerais	9
B. Lista de amostras potenciais	9
C. Gravação	10
No terreno – Limpeza	11
Eliminação rotineira de carcaças	11
Limpeza de veneno / derrame de veneno	11
Referências	11
Apêndice 1.	12
Análise pós-mortem no terreno: Lista de verificação	12
Mini-kit de análise pós-morte: Lista de verificação	13
Apêndice 2.	13
Fases de decomposição de uma carcaça	13
Apêndice 3.	14
Índice de condição corporal e determinação da idade	14
Envelhecimento do animal	14
Dentes de leão	15
Dentes de elefante	15
Determinação da idade dos dentes de búfalo	15
Apêndice 4.	16
A preparação de esfregaços de sangue	16
Apêndice 5.	18
ANTRÁX: Recolha de amostras para diagnóstico	18
Apêndice 6.	19
Doenças e condições da fauna selvagem, possivelmente significativas no KAZA	18
Apêndice 7.	22
Registo da cadeia de custódia	22
Apêndice 8.	23
Registo da autópsia	23

Introdução

Este Protocolo destina-se a servir de guia de campo e lista de verificação para veterinários de campo e seus assistentes que se deparam com a mortalidade de animais selvagens na região do KAZA e que podem ser chamados, a curto prazo, para realizar autópsias (PM) e recolher amostras de carcaças em áreas remotas, em circunstâncias difíceis. Não se destina a ser um documento que aborde todos os cenários e doenças possíveis, nem a substituir trabalhos anteriormente publicados e mais abrangentes sobre técnicas de PM de animais selvagens.

Este Protocolo não aborda a amostragem direcionada para vigilância de doenças; apenas a amostragem para diagnóstico ou vigilância ad hoc.

Uma vez que algumas das doenças que podem ser encontradas são zoonoses potencialmente fatais, aconselham-se precauções adequadas ao realizar tais PM, especialmente quando não há informação prévia. No entanto, também é difícil utilizar Equipamento de Proteção Individual (EPI) restritivo em condições de campo, especialmente quando está muito calor ou existem outros impedimentos no terreno. O risco percebido é ponderado em relação ao impedimento do EPI.

Alguns pontos a considerar:

1. As doenças zoonóticas mais importantes no KAZA são o antraz e a raiva. A febre do Vale do Rift não tem constituído um problema grave, embora possa vir a ocorrer. A tuberculose da fauna selvagem é atualmente pouco comum no KAZA, com exceção da tuberculose dos mangustos (possivelmente não zoonótica)
2. É importante conhecer a presença histórica destas doenças ou os surtos em curso nas áreas circundantes, especialmente em animais domésticos
3. Doenças per-agudas, como o antraz ou a pasteurelose, podem inicialmente ser difíceis de diferenciar no terreno de intoxicações agudas naturais ou maliciosas. Quando várias espécies morrem em proximidade (por vezes incluindo invertebrados), é provável que se trate de intoxicação maliciosa.
4. Deve ser realizada uma amostragem mínima quando se suspeitar de uma doença zoonótica grave:
 - **Antraz**
 - Recolher apenas esfregaço de sangue, sangue/tecido superficial – **NÃO ABRA A CARCAÇA**
 - **Raiva (com EPI adequado)**
 - Retirar a cabeça e transportá-la, em saco(s) estanque(s), para uma instalação com segurança biológica onde o cérebro possa ser removido
 - Ou abrir o crânio e remover o cérebro no local, utilizando EPI adequado (por pessoal vacinado contra a raiva)
 - Ou desarticule a cabeça e retire um pedaço do tronco cerebral, através do forame magno, com EPI adequado (por pessoal vacinado contra a raiva)
 - **TB e febre do Vale do Rift**
 - A autópsia completa pode (e provavelmente será) realizada, com muito cuidado e com EPI adequado, incluindo máscara facial
5. Regra geral... utilizar o máximo de EPI que for confortavelmente possível nas condições existentes, a menos que se suspeite de uma doença zoonótica grave conhecida. **Luvas e fatos de proteção são obrigatórios para todas as autópsias no terreno.**

Antes da mobilização

(Ver Lista de Verificação: Apêndice 1)

Equipamento de autópsia – nem tudo é essencial para todas as autópsias (ver mini-lista de verificação sugerida para autópsias: Apêndice 1)

- Facas – esfolamento e desossa (são necessárias várias para elefantes e outros mega-herbívoros)
- Aço de afiar + limas (ou pedra de óleo grossa / pedra de amolar)
- Machado e/ou cutelo
- Serra(s) – serra de corte ou serra de arco (ou ambas) – para cortar costelas, etc.; cortadores de costelas são úteis, mas não essenciais
- Tesouras de poda / podadores – para cortar costelas, etc., em animais até ± 20 kg
- Ganchos para carne (vários, afiados e de cabo longo – cabos em forma de laço – para fixação com corda)
- Bisturi e várias lâminas
- Pinças (com dentes de rato e lisas, com pelo menos 18cm)
- Tesouras (curvas e retas, com pelo menos 22cm)
- Recipientes de plástico para órgãos (por exemplo, baldes ou 'banheiras para bebés')
- Tábua de corte – painéis de pele, com a subcutânea voltada para cima, podem servir para o efeito
- Cordas de nylon (por exemplo, 3 x 10m, com diâmetro ≥ 10mm)
- Lona de PVC – de preferência com 4 a 8m²
- Pulverizador de mochila (de preferência a pilhas)
- Recipiente de água de 20 litros (cheio)
- Guincho (de preferência acionado por veículo)
- Fita métrica, ≥ 3m
- Mochilas adequadas para transportar equipamento solto, caso não haja acesso por estrada ou helicóptero
- Sacos do lixo (de plástico resistente e em quantidade)
- Detetor de metais (muitas vezes indisponível)
- Carrinho de mão
- Pá
- 5 litros de gasóleo
- Fósforos (e acendedores de fogo)

EPI, além de outro equipamento de proteção individual e contra riscos biológicos

- Fato de trabalho
- Máscaras faciais
- Óculos de proteção e/ou viseira
- Luvas – para jardinagem pesada, de látex/nitrilo e até aos ombros; tamanhos adequados
- Botas de borracha
- Avental de plástico
- Chapéus de abas largas, guarda-chuva e protetor solar (especialmente para pessoal de pele clara)
- Fitas para o suor
- Lixívia doméstica (1 a 2 litros)
- Pulverizador manual – 1 a 2 litros (para desinfetar superfícies com lixívia)
- Garrafas de plástico com água potável (de preferência congeladas no momento da partida)
- Material de ligadura impermeável e pomada antisséptica
- Sabão desinfetante e escova de limpeza
- Rolo de toalhas de mão descartáveis

Antes da mobilização (continuação)

Equipamento de amostragem e registo

- Lâminas de sangue (recentemente lavadas em álcool e secas/ polidas, ou lavadas no terreno com álcool $\geq 90\%$)
- Caixa de lâminas e/ou papel higiénico para embrulhar as lâminas preparadas
- Formalina a 10% em soro fisiológico normal (0,9%) – de preferência tamponado; em recipientes estanques (de preferência de plástico) com capacidade $\geq 250\text{ml}$
- Álcool a 70% com 5% de glicerina – 200ml (para parasitas)
- Recipientes de plástico para amostragem (de boca larga; por exemplo, embalagens de iogurte de 1 litro lavadas/ enxaguadas)
- Funil de plástico
- Garrafas de plástico estéreis/quase estéreis (por exemplo, garrafas de água mineral de 500ml recentemente esvaziadas – geralmente estéreis)
- Tubos de amostra esterilizados – por exemplo, Falcon de 50ml, para tecido de 15ml, com tampa vermelha de 10ml, com tampa roxa de EDTA de 5ml, criotubos de 2ml
- Fita isolante (para selar as tampas)
- Seringas de 10 ou 20ml e agulhas de 14 a 16gu
- Tampões bacterianos e tubos de ágar (estéreis e, de preferência, com ágar de carvão)
- Sacos de plástico para amostras – para resíduos biológicos ou invioláveis e/ou com fecho zip padrão
- Canetas à prova de água, além de etiquetas / fita adesiva
- Câmara digital (resistente, desinfetável, com boa função macro; smartphones são menos recomendáveis)
- GPS
- Prancheta e folhas de registo / formulários PM
- Formulários de cadeia de custódia (para casos forenses)
- Kit de teste de campo para cianeto – solução de picrato de sódio, tiras de papel de filtro, frasco de 100 ml com tampa hermética
- Recipiente de poliestireno e bolsas de gelo congeladas (para amostras que devem ser imediatamente refrigeradas)

O equipamento levado para o local depende da acessibilidade, da espécie e do tamanho do animal, bem como da mão de obra disponível; estabeleça prioridades, caso os recursos sejam limitados.

No terreno – Procedimento de PM

Atenção aos detalhes do contexto

- Mortalidade anterior ou em curso em áreas imediatas ou adjacentes – o que foi diagnosticado anteriormente
- Várias ou uma única espécie envolvida nas mortes anteriores
- Alterações sazonais, climáticas ou outras alterações ambientais – especialmente variações repentinas e significativas
- Alterações ecológicas – dinâmica populacional / pressões populacionais
- Atividade humana ou da vida selvagem invulgar, especialmente se for resultado de fatores climáticos



Podem ser recolhidas amostras ambientais em casos de suspeita de envenenamento ou intoxicação por cianobactérias © Laura Rosen

No terreno – Procedimento de PM (continuação)

Avaliação inicial da carcaça e arredores

- Carcaças isoladas ou em grupo (e espécies) – a presença de várias carcaças indica frequentemente envenenamento (natural ou doloso) ou caça furtiva com arma de fogo
- Todas as carcaças devem ser numeradas, fotografadas sem serem perturbadas e registadas por GPS
- Proximidade de água – que tipo de água (corrente, estagnada – corpo de água grande ou pequeno; insetos ou aves mortos)
- Proximidade de salinas naturais / solo mineralizado (cianeto ou outros venenos podem estar misturados com o sal nestes locais)
- Proximidade de atividade humana, culturas
- Presença de objetos invulgares, frutos não naturais, plantas tóxicas; frutos exóticos, como laranjas, ou frutos naturais, como melões, são utilizados para colocar venenos
- **Condição da carcaça:**
 - elefantes a morrer em posição esternal morreram muito repentinamente
 - elefantes deitados lateralmente, com as patas rígidas e esticadas, podem estar infetados com antraz
 - ruminantes com opistótono acentuado e patas
- Sinais de esforço (arranhões no solo causados por movimentos de ‘remada’) ou de luta antes da morte; elefantes em mau estado físico, incapazes de se levantar, especialmente em solo macio, podem deixar sulcos muito profundos no solo
- Grau de necrófagia; por que espécies; presença de necrófagos mortos (pesticidas / por vezes cianeto)

Exame superficial

- Se possível, ambos os lados da carcaça devem ser examinados; pode ser impossível em mega-herbívoros, sem equipamento e mão de obra adequados
- Se for provável que se trate de caça furtiva com arma de fogo, e se houver um detetor de metais disponível, examine toda a área subcutânea, pois as balas costumam ficar alojadas logo abaixo da pele
- Estágio de decomposição (ver **Apêndice 2**) – No Estágio 3 e além, as carcaças geralmente fornecem pouca informação, exceto para testes de toxinas residuais e antraz; ou balas. Às vezes, o conteúdo intestinal de carcaças nos Estágios III a V pode fornecer informações sobre a função intestinal (impactação, ingestão de areia)
- Índice de condição corporal (ver **Apêndice 3**)
- Idade do animal – determinada com base no tamanho corporal da espécie, medições físicas (occipício/base da cauda, ombro, presa saliente ou circunferência do peito/pata dianteira – elefante), dentição (ver **Apêndice 3**)
- Parasitas externos – a carga de carraças é frequentemente maior em animais enfraquecidos / magros, embora muitos carrapatos se desprendam normalmente após a morte
- Feridas – tamanho, área abrangida, estado de cicatrização, fraturas ou luxações evidentes, orifícios de bala
- Descoloração da pele – hemorragias visíveis em áreas de pele pálida (por exemplo, antraz),
- Sangue ou fluidos provenientes de orifícios – sangue fresco, não coagulado = antraz; fluidos com traços de sangue em carcaças em fase 2 avançada e fase 3 não são necessariamente indicativos de nada, exceto decomposição; muitas moscas-varejeiras mortas e outros insetos podem indicar envenenamento por pesticidas ou cianeto
- Mucosas – conjuntiva, oral, vulvar, retal ou prepucial (cianose, congestão, palidez, hemorragias); os abutres necrófagos atacam-nas em primeiro lugar



Kit de autópsia instalado junto a uma carcaça de elefante © Laura Rosen

No terreno – Procedimento de PM (continuação)

Abertura da carcaça

- Recolher esfregaços de sangue (ver **Apêndice 4**, bem como **Apêndice 5** - amostras para antraz); notas adicionais:
 - Os esfregaços de sangue periférico são os melhores para hemoparasitas, mas muitas vezes só são viáveis em carcaças no Estágio 1 e no início do Estágio II
 - As esfregações de sangue profundas das extremidades são as mais indicadas para carcaças dos estágios II e III – corte profundo na face caudal, logo acima do pé/corona; uma facada neste local num elefante produzirá normalmente sangue
 - Faça esfregaços à sombra / sob cobertura quando prevalecerem condições de sol forte ou humidade
 - As moscas podem destruir esfregaços de sangue desprotegidos ao alimentarem-se deles; por isso, proteja-os / embrulhe-os
- Quando houver suspeita de antraz ou raiva, realize uma autópsia restrita / mínima apenas para obter as amostras necessárias (ver Introdução, acima, e **Apêndice 6**)
- Sempre que possível, coloque a carcaça deitada sobre o lado direito e **faça a incisão do lado esquerdo**. Isto permite o acesso inicial ao baço, ao estômago, ao rim esquerdo e à borda do lobo esquerdo do fígado. Os répteis e as aves devem ser posicionados em decúbito dorsal e a incisão deve ser feita ventralmente
- Quando a abertura do lado direito for a única opção, poderá ser necessário eviscerar completamente o trato intestinal antes de ser possível obter um bom acesso ao estômago e ao baço
- Efolamento – o esfolamento total é preferível para uma avaliação subcutânea abrangente, mas, no terreno, é normalmente viável apenas em animais até ± 200 kg
 - Pode ser necessário em casos de ferimentos por arma de fogo, uma vez que as balas de saída podem ser encontradas logo abaixo da pele
- **Acesso às cavidades corporais:**
 - Na maioria das espécies, é possível remover as patas dianteiras e traseiras superiores (esquerda) refletindo-as através dos músculos do ombro e da articulação da anca, respetivamente
 - Corte todos os músculos da caixa torácica, expondo os ossos
 - Remova os músculos abdominais (esquerdos) e o peritônio da linha média ventral até à coluna lombar, expondo as vísceras
 - Corte o diafragma na sua inserção nas costelas superiores
 - Remova a (parte superior da) caixa torácica serrando/cortando as costelas ao nível do esterno e da coluna vertebral; uma a uma, se necessário
- **Pescoço e cabeça:**
 - Animais ≤ 500 kg: geralmente é possível remover a traqueia (+ esófago) e pulmões em conjunto; pode incluir a língua, liberação dos tecidos da face interna das mandíbulas
 - Acesso ao cérebro através do corte da coluna na articulação occipital e serrar a cabeça ao meio, do nariz ao occipício, após cortar da pele e dos músculos; deixando 2 metades do cérebro
 - Animais de maior porte — é mais fácil usar um machado para aceder ao cérebro (nas mãos de um operador experiente); ver Introdução acima para amostragem de raiva

Elefante:

- Puxe a pata dianteira (superior) para a frente (com um veículo, um guincho ou apenas cordas — use um «nó de camionista» à volta da árvore)
- Ou remova-a completamente; nesse caso, pode ser melhor esfolar e desossar primeiro, dependendo do equipamento e mão-de-obra, e se for necessário acesso total ao tórax; forquilhas de madeira são úteis para apoiar a perna durante o esfolamento/desossamento
- Puxe a perna traseira para trás, da mesma forma (ou remova-a totalmente, como acima)
- Faça linhas de corte na pele e remova, descascando, o painel de pele abdominal, em um ou mais pedaços, da linha média ventral até à linha média dorsal
- Remova os músculos abdominais – pode ser útil deixar o peritônio a segurar os órgãos abdominais no lugar
- Remova as costelas como descrito acima – é necessário um machado para as libertar nas inserções esternal e espinhosa; **Nota:** os pulmões dos elefantes estão aderentes à caixa torácica e esta ligação tem de ser cortada à medida que cada costela é removida, permitindo que os pulmões permaneçam na cavidade torácica



Podem ser feitos esfregaços de sangue no terreno durante a autópsia © Chris Foggin

No terreno – Procedimento de PM (continuação)



O acesso a amostras vitais pode ser feito através de uma abertura limitada no lado esquerdo da carcaça (baço, estômago, fígado, pulmão e coração) © Chris Foggin

Remoção e exame macroscópico dos órgãos

- Observações gerais:
 - cor geral dos órgãos (pálida, amarelada, roxa/cianótica)
 - quantidade de gordura
 - consistência e grau de coagulação do sangue
- Verificar se há inflamação, hemorragias, fluidos (quantidade, cor e turbidez) e aderências
- Casos **potencialmente perigosos do ponto de vista biológico** — os órgãos podem ser simplesmente recolhidos in situ assim que a carcaça for aberta; por exemplo, rim esquerdo, baço, conteúdo do estômago, lobo esquerdo do fígado, pulmão esquerdo e músculo cardíaco
- Cavidade abdominal: ordem de remoção sugerida:
 - Baço – tamanho, inchaço (bordas arredondadas / superfície de corte protuberante), hemorragias superficiais (nota: estas podem ser normais em elefantes) + outras descolorações superficiais; cor / consistência da superfície de corte
 - Rim superior (esquerdo) – gordura perirrenal, descolorações (cor, distribuição, tamanho)
 - Glândula adrenal – tamanho, inchaço, hemorragias

- Trato gastrointestinal:
 - Estômago – se possível, para potenciais casos de intoxicação, retirar uma amostra do conteúdo do estômago (ver abaixo, na secção sobre amostragem), **antes de o remover do abdômen**; cortar o esôfago ao nível do diafragma e retirá-lo da cavidade abdominal; muitas vezes, é melhor ligar o estômago com cordão de nylon trançado em ambas as extremidades (cárdia e piloro) antes de o seccionar e remover como uma unidade separada
 - Um estômago de elefante, ou rúmen, demasiado pesado para ser manuseado manualmente, pode ser parcialmente esvaziado primeiro; um carrinho de mão ou lona de PVC utilizada como ‘trenó’ pode ajudar no processo; voltar a suturar, se necessário
 - Liberte o duodeno do ducto biliar comum, solte o intestino delgado do mesentério enquanto o extrai do abdômen; em ruminantes ou espécies de mamíferos com estômago simples, o intestino grosso é extraído juntamente com o intestino delgado
 - O intestino grosso de mega-herbívoros com fermentação no intestino posterior é manuseado da mesma forma que o estômago
 - Estenda os intestinos, de preferência sobre uma superfície sem areia; se estiver no terreno, pode utilizar-se uma lona de PVC como superfície limpa
 - Para além da recolha de amostras toxicológicas, a avaliação patológica do trato gastrointestinal deve ser deixada para o final do procedimento de autópsia (ver abaixo)
- Fígado – separar do diafragma e remover – verificar se há inchaço, parasitas, descoloração local ou geral;
- Vesícula biliar (ausente em animais com fermentação no intestino grosso e no duiker-comum) – verificar o enchimento, a cor e a consistência da biliar; em elefantes ocorrem nos principais ductos biliares na ausência de uma vesícula biliar
- Rim direito – em muitos casos, é removido juntamente com o fígado; exame idêntico ao do rim esquerdo
- Bexiga – verificar a quantidade e a cor (por exemplo, sangue) da urina
- Útero – verificar se há gravidez; medir o comprimento crânio-caudal do feto
- Testículos – caudalmente adjacentes aos rins no elefante; caso contrário, externos, embora profundos na preposição rinoceronte; verificar o tamanho, a consistência e a inflamação
- Cavidade torácica – em animais ≤ 500kg – a traqueia, os pulmões, o esôfago e o coração são removidos em conjunto; o coração do elefante pode pesar 25kg; assim, o coração e cada pulmão devem ser removidos separadamente, com a ajuda de ganchos de carne; o saco pericárdico é aberto primeiro, in situ, no elefante
 - Cavidade torácica – verificar aderências (normais no elefante), líquido (quantidade e consistência)
 - Pericárdio e coração – verificar se há líquido/pus no saco pericárdico; hemorragias na superfície ou no interior do músculo;
 - quantidade de gordura coronária ou “gordura aquosa”; áreas pálidas na superfície de corte; verificar se as válvulas cardíacas apresentam inchaço ou
 - Traquéia e brônquios principais – verificar se há líquido, espuma, sangue, ingestão (comumente aspirada em ruminantes moribundos)
 - Pulmões – verificar se estão colapsados ou não; pesados/cheios de líquido ou sangue; áreas de consolidação; espuma na traqueia; vermes na traqueia ou brônquios

No terreno – Procedimento de PM (continuação)

- Cabeça (ver acima para acesso aos órgãos)
 - Língua e gengivas – verificar se há úlceras ou abscessos
 - Dentes – verificar desgaste anormal; dentes em falta
 - Cavidade nasal – verificar se há parasitas (larvas de insetos) e inflamação
 - Gânglios linfáticos e glândulas salivares – verificar se há inflamação / abscessos
 - Cérebro e
- Sistema músculo-esquelético
 - Abra as articulações visivelmente inchadas – verifique se há excesso de líquido sinovial ou pus
 - Faça incisões nos principais blocos musculares, especialmente nas regiões inchadas – verifique se há hemorragia ou necrose
- Medula espinhal
 - Abrir se houver indícios de paralisia/paresia posterior
 - Utilize um machado ou um cutelo para cortar ao longo da coluna vertebral, acima da medula espinhal OU
 - Utilizando uma serra, faça dois cortes na coluna vertebral com uma distância de aproximadamente 8cm entre si e ‘retire’ a medula espinhal do da secção cortada OU
 - Remova a cabeça e, em seguida, retire uma pequena secção da medula espinhal do forame magno e do canal vertebral expostos
 - Verificar se há compressão, abscessos ou lesões traumáticas



Recolha de amostra de tecido muscular de um elefante © Laura Rosen

Procedimentos de amostragem

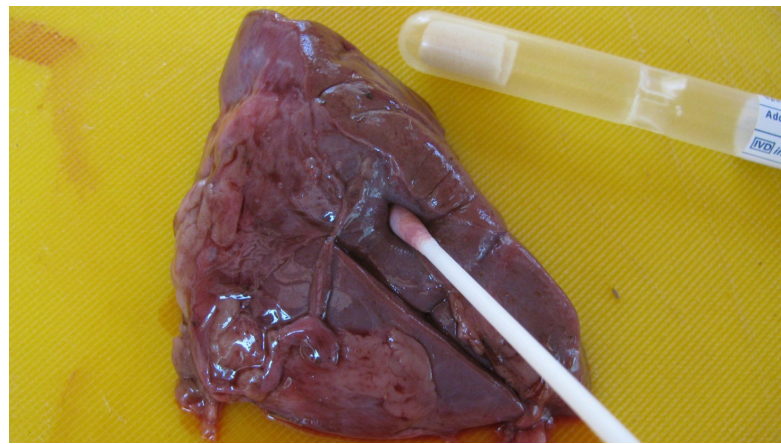
A. Considerações gerais

1. Quatro cenários de diagnóstico; a variedade de amostras pode depender disso:
 - i. Confirmar um diagnóstico de campo óbvio feito com base em achados patológicos macroscópicos (poucas amostras específicas)
 - ii. Confirmar um diagnóstico de campo bastante óbvio, **ou suspeito**, mas também procurar outras condições para fins de vigilância (várias amostras)
 - iii. Sem ideia da causa da morte, mas com amostras frescas e de boa qualidade disponíveis (várias amostras)
 - iv. Sem ideia e, de qualquer forma, amostras de má qualidade (poucas amostras específicas)

Embora possa parecer melhor recolher no terreno e, em seguida, enviar o maior número possível de amostras, independentemente de qualquer diagnóstico inicial, o excesso de amostras pode sobrecarregar os recursos de diagnóstico ou armazenamento, não sendo então devidamente otimizadas.

A amostragem direcionada no terreno, ou a racionalização de múltiplas amostras durante o pré-processamento laboratorial subsequente, pode revelar-se mais satisfatória

2. Amostras específicas, de boa qualidade e bem preservadas produzem, obviamente, os melhores resultados
3. Deve ser utilizado o local mais fresco possível no terreno e durante o transporte até à base, no caso de amostras que não se encontrem em conservantes específicos. Jornal molhado ou mesmo vegetação molhada, enrolados à volta de recipientes devidamente selados, são úteis se não houver outro método de refrigeração disponível



Recolha de uma amostra de tecido para análise bacteriológica © Chris Foggin

B. Lista de amostras potenciais

Ver **Apêndice 6**. Para a lista de algumas doenças/condições potenciais e amostras

1. Citologia
 - Esfregaço de sangue – conforme descrito acima; primeira amostra a ser colhida
 - Esfregaços por impressão ou raspagem
 - Baço
 - Nódulo linfático
 - Estômago
 - Duodeno / jejuno
 - Cérebro e/ou meninges
 - Qualquer lesão purulenta

Procedimentos de amostragem (continuação)

B. Lista de amostras potenciais (continued)

Ver **Apêndice 6**. Para a lista de algumas doenças/condições potenciais e amostras

2. Histopatologia – em formalina a 10% / soro fisiológico; tamanho ± 4 x 2 x 2 cm, ou menor (aproximadamente metade do tamanho do polegar); bordas ‘limpas’; enxaguar o excesso de sangue; incluir quaisquer lesões + tecido ‘normal’ adjacente
 - Baço
 - Fígado
 - Rim – incluir córtex e medula
 - Glândulas supra-renais – idem
 - Pulmão
 - Coração
 - Músculo esquelético (diafragma, coxa e/ou ombro)
 - Nódulo linfático – periférico e visceral (especialmente se ‘anormal’)
 - Trato gastrointestinal – estômago/rúmen, duodeno, jejuno, ceco
 - Cérebro – de qualquer animal >20kg, seccionar longitudinalmente; de qualquer animal >100kg, seccionar longitudinalmente e transversalmente – esta última várias vezes, dependendo do tamanho; colocar em ‘cubas’ ou sacos de plástico com 10% de F/S (não em garrafas de boca estreita)
 - Medula espinhal – cranial e caudal, se possível
 - Qualquer outro tecido que pareça anormal
3. Bacteriologia – utilizar esfregaços em ágar-carvão, ou pelo menos esfregaços com um meio à base de ágar; refrigerar
 - Sangue cardíaco
 - Cérebro
 - Fígado / baço, frequentemente menos proveitosos
 - Periferia das lesões purulentas, especialmente se forem múltiplas
 - Fluido do intestino delgado - > 2ml; em caso de suspeita de septicemia clostridial
4. PCR / virologia – amostras do tamanho de uma ‘ponta de dedo’; refrigerar ou congelar
 - Sangue (1 a 2ml)
 - Baço
 - Fígado
 - Rim
 - Pulmão
 - Cérebro
 - Líquido das vesículas ou epitélio da febre aftosa
 - Outros órgãos ou tecidos que apresentem inflamação

5. Toxicologia – refrigerar ou, de preferência, congelar
 - Fluido gástrico – não menos de 100ml se for líquido, ou 500g se for seco
 - Se o conteúdo estiver relativamente seco, esprema-o com as mãos, deixando que o líquido esorra por um funil para um recipiente (por exemplo, um tubo Falcon, uma garrafa ou um recipiente) OU
 - retire o líquido com uma cuba de boca larga e transfira-o para um tubo/garrafa
 - Fígado – 50 a 100g (refrigerado/congelado)
 - Rim – se não houver fígado disponível (como acima)
 - Sangue / soro – > 5ml (se houver suspeita de botulismo ou pesticidas)
6. Amostras especiais para doenças específicas – ver lista no **Apêndice 6**.
7. Amostras forenses e recipientes
 - A Unidade de Investigação da Cena do Crime deve estar presente (Policia da Autoridade dos Parques)
 - Utilize sacos invioláveis para amostras inteiras ou para guardar (vários) tubos com material de amostra
 - Podem ser utilizados sacos de plástico intactos e à prova de fugas; selados com fita adesiva e com assinaturas sobre o selo e no saco
 - O Formulário de Cadeia de Custódia deve ser preenchido no local (ver abaixo)

C. Registo

- Coordenadas GPS de cada carcaça registadas no Relatório PM (e no Relatório da Cena do Crime, se relevante)
- Etiquetar todas as amostras — incluindo data, ID PM (espécie e ID da carcaça, se relevante), tecido de origem se não for óbvio
- Rotulagem detalhada para amostras forenses; inclui o seguinte:
 - Data e hora da recolha
 - Identificação única da carcaça (para essa data)
 - Número de identificação único da amostra (para essa data)
 - Pessoa responsável pela recolha
 - Detalhes da amostra (espécie, órgão/substância)
 - Cada número de amostra deve ser identificado e corresponder ao Relatório da Cena do Crime
 - O Formulário de Cadeia de Custódia deve ser preenchido (**Apêndice 7**); deve acompanhar as amostras forenses
- As fotografias devem incluir
 - A cena antes de qualquer intervenção; incluindo diferentes aspetos da(s) carcaça(s)
 - Etapas da abertura da carcaça
 - Órgãos in situ
 - Órgãos individuais; incluindo macro / grande plano das lesões
 - Amostragem / amostras
 - Operações de limpeza

As fotografias devem ser tiradas de forma a permitir que um observador que não tenha envolvido, se orientar; ou seja, uma única fotografia em grande plano de parte de um órgão pode não fazer sentido para alguém que não estava presente quando a fotografia foi tirada.
- Relatório de PM a ser preenchido e assinado – ver **Apêndice 8** para o formato sugerido

No terreno – Limpeza



Eliminação de uma carcaça com cianeto © Chris Foggin

Eliminação de carcaças de rotina

- Muitas carcaças podem ser deixadas para os necrófagos tratarem numa área de conservação adequada; embora não numa zona frequentada por humanos
- As carcaças potencialmente perigosas são aquelas que podem ser infecciosas ou tóxicas para outros animais ou seres humanos (que também podem se alimentar das carcaças)
 - Queimar ou enterrar no local, se possível; inclui o conteúdo intestinal que possa estar espalhado
 - Cubra as carcaças não queimadas com soda cáustica ou cal viva; mesmo que sejam enterradas; inclui solo contaminado
- Se for impossível queimar / enterrar as carcaças, considere:
 - Cobri-las com gasóleo... e atear-lhe fogo, se for improvável que isso provoque um incêndio florestal
 - Cobrir completamente com plástico ou ramos (possivelmente após cobrir com gasóleo)
 - Vigiar as carcaças até à fase tardia de decomposição de Estágio 3

Limpeza de veneno / derrame de veneno

- Carcaça envenenada
 - Recolha todos os vestígios de veneno e queime-os completamente no local (posicione-se a barlavento!)
 - Ou leve-os em sacos de plástico e queime-os num incinerador adequado
 - Deve incluir o conteúdo intestinal derramado
- Derrame de veneno
 - Remova e enterre (ou queime) a camada superficial do solo contaminada
 - Inunde o resto da área, onde os venenos se encontravam, com água e/ou
 - Utilizar descontaminação química – por exemplo, soda cáustica ou cal viva
- Descontaminação de cianeto
 - O cianeto desaparece normalmente com bastante rapidez, especialmente se estiver molhado/dissolvido; a meia-vida do cianeto em solução é de aprox. 2 horas
 - Os 'Cakelets' de cianeto (blocos de 20g de NaCN, utilizados no processamento de minério de ouro) devem ser removidos da local e neutralizados noutro local

- Os produtos químicos que pode utilizar para o cianeto são:
 - Ácido para piscinas (ácido clorídrico)
 - Cloro de piscina (hipoclorito de cálcio ou "hth")
 - Utilize-os molhados, ou seja, adicione água depois de ter colocado o produto químico no chão
 - Tenha cuidado com a libertação de gás HCN altamente tóxico
 - Se não houver mais nada disponível, inunde a área e coloque guardas no local durante 1 a 2 dias
- Para massas de água / bacias contaminadas com veneno
 - tente secá-los e mantenha-os secos a partir daí
 - e/ou mantenha-os em observação durante mais de 5 dias

Referências

Lane, E.P., Foggin, C.M. & Kock, N. (2012). **Técnicas de necropsia**. Em Restrição química e física de animais selvagens, 2.ª edição, (M.D. Kock & R. Burroughs, eds.). International Wildlife Veterinary Services (África). ISBN 978-062052162-8; pp. 339-349

Penrith, M-L e Thomson, G (2012). **Análise da situação das doenças animais transfronteiriças e do seu controlo na Região da SADC Durante o Período 2005-2011, com Foco nos Cinco Países que Contribuem com Território para a Área de Conservação Transfronteiriça (TFCA) Kavango-Zambeze (KAZA)**. Relatório técnico para o Programa AHEAD da Wildlife Conservation Society. 72 pp. https://www.wcs-ahead.org/kaza/rpt_tads_status&control_tad_sci_ltr_final.pdf.

Woodford, M.H., Keet, D.F., Bengis, R.G. (2000). **Procedimentos post mortem para veterinários de vida selvagem e biólogos de campo**. M.H.Woodford, ed.) Publicado pela OIE, Care for the Wild e Veterinary Specialist Group/Species Survival Commission. pp. 55. ISBN 92-9044-491-6

Apêndice 1.

Análise pós-operacional no terreno: Lista de verificação

Equipamento PM

- Facas – para esfolar e desossar
- Afiador + limas / pedra de óleo
- Machado
- Cutelo
- Serra(s) – serra de corte ou serra de arco
- Tesouras de podar
- Ganchos para carne
- Bisturi e lâminas múltiplas
- Pinças (de dentes de rato e lisas)
- Tesouras (curvas e retas)
- Recipientes de plástico para órgãos
- Tábua de corte
- Cordas de nylon
- Lona de PVC
- Pulverizador de mochila
- Recipiente de água de 20 litros
- Guincho
- Fita métrica, ≥ 3m
- Mochilas
- Sacos do lixo
- Detetor de metais
- Carrinho de mão
- Pá
- Fósforos (e acendedores de fogo)
- 5 litros de gasóleo

EPI + equipamento pessoal / de proteção contra riscos biológicos

- OFato de trabalho
- Máscaras faciais
- Óculos de proteção e/ou viseira
- Luvas – pesadas, de látex/nitrilo, com ombro
- Botas de borracha
- Avental de plástico
- Chapéus de abas largas
- Guarda-chuva
- Protetor solar
- Fitas para o suor
- Lixívia doméstica (1 a 2litros)
- Pulverizador manual – 1 a 2litros (com lixívia)
- Água potável congelada
- Pensos + pomada antisséptica
- Sabonete desinfetante / escova de limpeza
- Rolo de papel de cozinha

Equipamento de amostragem e registo

- Lâminas para sangue
- Álcool para limpar as lâminas
- Caixa de lâminas / papel higiénico
- Recipientes com solução salina a 10% ≥ 250ml
- Álcool a 70% com 5% de glicerina
- Recipientes de plástico para amostras (tipo iogurte)
- Funil de plástico
- Frascos de plástico esterilizados
- Tubos Falcon (50ml)
- Tubos de tecido (15ml)
- Tubos com tampa vermelha (10ml)
- Tubos com EDTA (5ml)
- Tubos criogénicos (2 + 5ml)
- Fita isolante
- Seringas (10 ou 20ml)
- Agulhas (14 ou 16 G)
- Tampões bacterianos + ágar (carvão)
- Sacos para amostras (à prova de violação, com fecho zip, para resíduos biológicos)
- Canetas à prova de água
- Etiquetas / fita adesiva
- Câmara
- GPS
- Prancheta / formulários PM
- Formulários de cadeia de custódia
- Kit de teste de campo de cianeto (picrato de sódio, etc.)

Itens adicionais

Apêndice 1. (continuação)

Mini-kit de autópsia: Lista de verificação

Equipamento de autópsia

- 2 facas
- Afiador de facas
- Cortador de alcatifa
- Machado pequeno
- Cabo de bisturi e várias lâminas
- Pinças
- Tesoura
- Saco de resíduos

EPI + equipamento pessoal / de proteção contra riscos biológicos

- Fato de proteção
- Luvas – curtas e retais
- Óculos de proteção
- Avental de plástico
- Água (num pulverizador, se possível)
- Sabão
- Saco do lixo resistente

Equipamento de amostragem e registo

- Recipientes com solução salina a 10% > 250ml
- Álcool para limpar lâminas
- Lâminas / papel higiénico
- Agulhas (18 ou 20 G)
- Seringas (1, 3, 5, 10, 20, 50ml)
- Recipientes para amostras – vidro e plástico
- Tonselas
- Frascos de plástico esterilizados
- Marcador permanente
- Lápis
- Sacos para recolha de provas
- Caixote para objetos cortantes
- Câmara (portátil ou telemóvel de boa qualidade)

Apêndice 2.










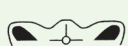



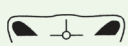



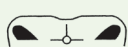


Fases de decomposição de uma carcaça

FASE	TEMPO	ALTERAÇÕES	INSETOS
1	0 a 6 horas	“Normal” Início do rigor mortis	Ovos de mosca-azul
2	6 a 48 horas	Inchaço (abdómen) Começa a cheirar mal	Larvas de mosca azul Crescimento das larvas
3	2 a 10 dias	Muito inchado (gás sob a pele) Cheiro muito forte (devido à amoníaca) Torna-se esponjoso Desincha Torna-se líquido	Larvas de mosca azul em tamanho real (1 cm) As larvas desaparecem (escavam) Escaravelhos e outros insetos
4	10 a 21 dias	Secagem A pele desprende-se dos ossos A pele endurece	Sem larvas de mosca-azul
5	3 semanas a meses	A pele encolhe (contraí-se / racha) A carcaça ainda mantém a ‘forma’ A pele desaparece finalmente	Traças-dos-chifres
6	Meses a anos	Apenas ossos – ligeiramente húmidos a SECOS	

Influenciado por: tamanho do animal, doença, necrófagos, temperatura ambiente, chuva

Apêndice 3.

Índice de Condição Corporal e Determinação da Idade

Índice de Condição Corporal (ICC)	Índice de Condição Corporal	Vértex (meio das costas)	Ossos de gancho (Retrovisor)	Linha entre os ossos do anzol e do perno	Cavidade entre a cabeça da cauda e o pino
<p>Quanto é que os ossos sobressaírem</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ossos da anca - Coluna vertebral - Costelas <p>Pontuação de 1</p> <p>1 = muito magro (emaciado)</p> <p>2 = magro</p> <p>3 = condição normal boa</p> <p>4 = condição (gordo) muito</p> <p>5 = gordo (obeso)</p>	1. Depressão profunda na				
	2. Depressão visível na região lombar				
	3. Ligeira depressão na zona lombar				
	4. Sem depressão na zona lombar				
	5. Costelas curtas cobertas por uma espessa camada de tecido adiposo				

Idade do animal

Em função do tamanho e da raça

Bebé (Jj)	- nascido recentemente
Juvenil (J)	- ainda com a mãe
Subadulto (Sa)	- já não está com a mãe, ainda é pequeno
Jovem adulto (Ay)	- quase no tamanho adulto: não se reproduz
Adulto (A)	- em fase de reprodução
Idosos (Aa)	- perto do fim da vida

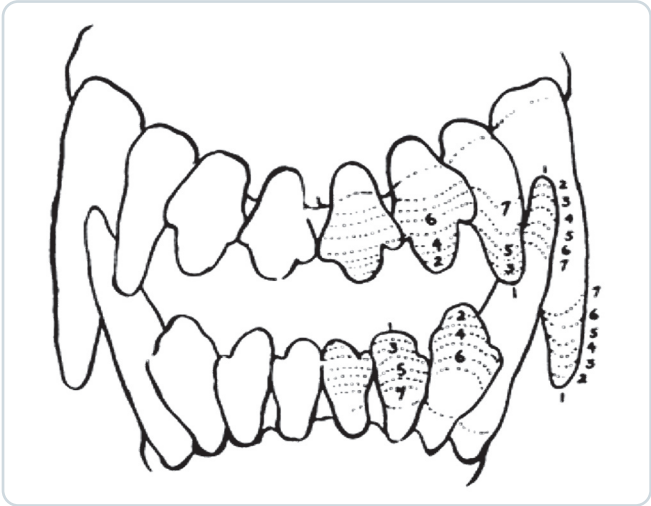
Sobre os dentes

- Dentes de leite
- Mudança para os dentes definitivos (dentes de leite e dentes definitivos)
- Todos os dentes permanentes
- Dentes permanentes muito desgastados

Apêndice 3. (continuação)

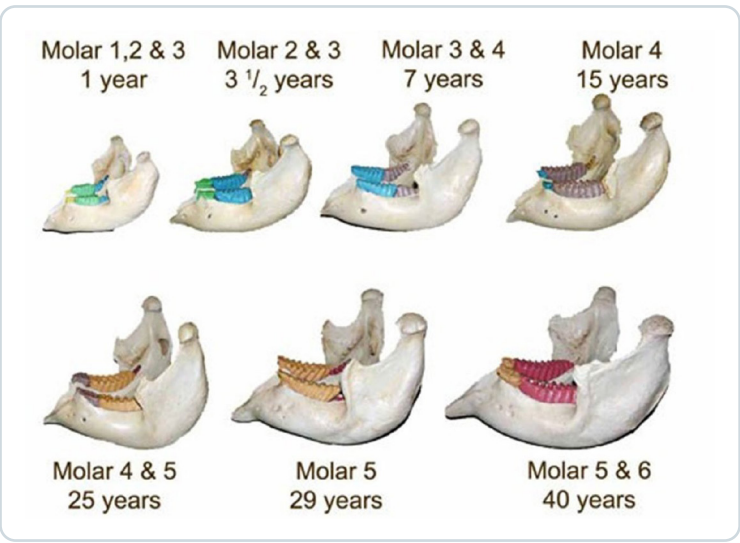
Dentes de leão

2 – 4 semanas	l ₁₋₄ , e c fora
6 – 8 meses	l ₁₋₂ fora
12 – 14 meses	C fora e a crescer
2 anos	C totalmente fora
3 – 4 anos	l ₁₋₄ todos fora; C apenas desgastado
5 – 9 anos	l ₁₋₄ e C desgastados conforme o diagrama
10 – 14 anos	l ₁₋₄ e C muito desgastados / partidos

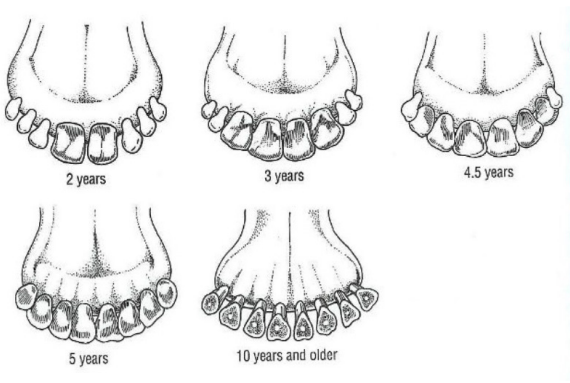


Determinação da idade dos elefantes - também com base no comprimento das presas: as presas surgem por volta dos 30 meses de idade

Molar	Erupção do dente molar	Perda de molares
I	nascimento (5 lamelas)	2 anos
II	nascimento (7 lamelas)	6 anos
III	1 ano (10 lamelas)	13-15 anos
IV	6 anos (10 lamelas)	28 anos
V	18 anos (12 lamelas)	43 anos
VI	30 anos (13 lamelas)	Mais de 65 anos



Determinação da idade dos dentes de búfalo



Apêndice 4.

A preparação de esfregaços de sangue

Exceto quando preparadas para o exame de microfilárias ou tripanossomas, as esfregações de sangue devem ser finas. Deve ser possível ver o papel de jornal através delas. Nos casos acima referidos, é vantajoso colocar o esfregaço espesso e o fino na mesma lâmina. Em todos os casos, os esfregaços devem ser secos rapidamente, rotulados com um lápis de diamante ou lápis de cera e embrulhados (em lenço de papel/papel higiênico) ou colocados numa caixa para evitar danos causados por insetos. Os esfregaços finos podem ser fixados por imersão em álcool metílico, mas os esfregaços espessos não devem ser fixados. As esfregações de sangue são melhor obtidas a partir de sangue venoso colhido de um animal vivo, mas podem ser feitas esfregações úteis a partir de sangue colhido de um animal que tenha morrido recentemente, geralmente cortando-lhe uma orelha. O sangue capilar periférico pode ser preferível para a realização de esfregações destinadas à detecção de microfilárias, que apresentam frequentemente um padrão cíclico na sua presença no sangue periférico (Fig. 5).

É possível preparar esfregaços de sangue espessos colocando uma gota de sangue na lâmina e espalhando-a circularmente com o canto de outra lâmina de vidro, ou mesmo com um fósforo seco e limpo. A gota «espalhada» deve ser opaca e ter cerca de 1cm de diâmetro. As esfregações de sangue finas são realizadas da seguinte forma: Uma lâmina limpa (de preferência lavada com álcool e seca ao ar) é colocada sobre uma superfície horizontal e coloca-se uma gota de sangue fresco (pode ser sangue com anticoagulante) perto de uma das extremidades. Uma segunda lâmina, que pode ter os cantos cortados, mantida num ângulo agudo, é colocada sobre a lâmina horizontal e é puxada para dentro da gota de sangue. Quando o sangue se tiver espalhado uniformemente por quase toda a extremidade da lâmina espalhadora, esta deve ser empurrada rapidamente ao longo do comprimento da lâmina horizontal. Deve manter-se uma pressão uniforme sobre a lâmina espalhadora enquanto se realiza a esfregaço. A esfregaço é seca agitando-a ao ar. Deve ter-se cuidado para evitar a exposição a moscas.

Notas específicas sobre o antraz

Para esfregaços obtidos de casos suspeitos de antraz, que podem estar bastante em decomposição, pode seguir-se o procedimento a seguir.

- Devem ser usadas luvas descartáveis, se disponíveis
- Utilizando uma lâmina de bisturi nova, faça um corte na parte posterior do pé, logo acima do casco (corona, em animais com cascos)
- À medida que o sangue aparecer, recolha-o na ponta da lâmina do bisturi e transfira-o para a lâmina de microscópio (conforme o diagrama)
- Espalhe a esfregaço conforme mostrado e siga o resto dos procedimentos

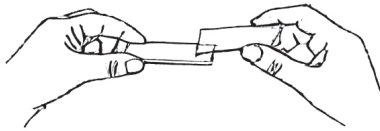
Se a carcaça não tiver sido aberta, a formação de esporos de antraz resistentes deverá ser mínima com este procedimento, embora a esfregaço deva, mesmo assim, ser manuseada o mínimo possível. As luvas e a lâmina do bisturi podem ser eliminadas juntamente com a carcaça (por incineração ou enterramento).

Os carnívoros, como leões ou leopardos, podem desenvolver um antraz mais localizado. Se houver um inchaço evidente na cabeça ou no pescoço, faça um esfregaço de tecido a partir do líquido/sangue sob a pele, utilizando o mesmo procedimento que para o esfregaço de sangue.

Se não houver sangue, retire um pequeno pedaço de carne/pele e coloque-o no frasco fornecido. Se não houver carne (carcaça muito velha), retire um pouco de solo de debaixo da carcaça e coloque-o no frasco.

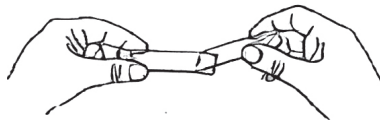
Apêndice 4. (continuação)

Realização de esfregaços de sangue



5a Transfira a gota de sangue

Segure firmemente outra lâmina de microscópio limpa sobre uma superfície plana e transfira a gota de sangue do canto da **lâmina de espalhamento** para a extremidade desta segunda lâmina, a cerca de 1 cm da sua borda

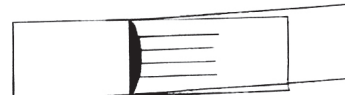


5b Lâminha de espalhamento num ângulo de 30°

A gota de sangue deve agora ser espalhada, tocando com a ponta do espalhador na lâmina de microscópio num ângulo de 30°, ligeiramente à frente da **gota** (Fig. 5b), e, **em seguida**, puxando suavemente o espalhador para trás até que este toque na gota (Fig. 5c)



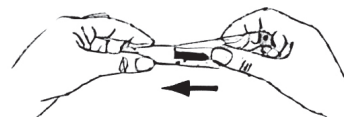
5c Puxe a lâmina de espalhamento para trás



5d O sangue corre entre as lâminas

O sangue irá agora escorrer ao longo da largura do espalhador (Fig. 5d)

Se houver sangue a mais, levante o espalhador, desloque-o alguns milímetros para a frente e toque novamente na lâmina de microscópio. Este processo pode ser repetido até se certificar de que não há sangue a mais



5e Mova a lâmina espalhadora

A **lâmina de espalhamento** é agora, enquanto mantida contra a lâmina de esfregaço, movida para a frente de forma rápida e suave, afastando-se da gota de sangue em direção à extremidade mais distante da lâmina de microscópio, arrastando o sangue consigo (Fig. 5e). Isto deverá deixar um esfregaço com uma forma característica, que se estreita à medida que se aproxima da extremidade. Lembre-se de que quanto mais fino for o esfregaço, melhor

Deixe a lâmina com a esfregaça a secar ao ar

Precauções especiais ao fazer esfregaços

- Utilize apenas lâminas de vidro padrão para microscópio!
- Todas as lâminas devem estar perfeitamente limpas e secas antes da utilização
- Evite a contaminação da gota de sangue com sujidade, água, fezes, etc.
- A gota de sangue não deve ser demasiado grande, caso contrário o esfregaço ficará demasiado espesso e inadequado para exame
- Não toque com as mãos ou os dedos na superfície da lâmina com a amostra
- Ao espalhar o sangue, a **lâmina de espalhamento** deve ser movida de forma suave, firme e contínua ao longo da lâmina de amostra. Se o movimento for demasiado rápido ou irregular, resultará numa esfrega irregular
- Espalhe a gota de sangue antes que comece a coagular
- Deixe as esfregações secarem o mais rapidamente possível, protegendo-as das moscas, pois estas destruirão a amostra. Deixe as esfregações secarem completamente
- Não refrigerar

Fig. 5

Preparação de esfregaços de sangue

Cortesia: Instituto Veterinário de Onderstepoort, Pretória, África do Sul

Apêndice 5.

ANTRÁX: Recolha de amostras para diagnóstico

Informações gerais

- Tenha cuidado, pois as pessoas podem contrair antraz
- Ao recolher amostras para detetar antraz, pode contrair ANTRAZ CUTÂNEO caso se corte ou tenha uma ferida aberta
- O antraz cutâneo pode ser facilmente tratado com antibióticos

Desde que sejam seguidas algumas precauções simples, o processo de recolha de amostras deve ser praticamente isento de riscos.

- A bactéria do antraz no interior da carcaça morre poucos dias após a morte do animal
- Se a carcaça não for aberta, ocorrerá muito pouca contaminação da área
- Apenas se a carcaça for aberta e espalhada é que se formarão os ESPOROS do antraz
- Estes esporos são muito resistentes ao calor, aos desinfetantes e à dessecação (secagem) e podem durar muitos anos
- Por isso, ao recolher amostras de antraz, faça-o causando o mínimo de perturbação possível à carcaça

Precauções

- Se possível, use roupa de proteção, de preferência um fato-macaco e botas de borracha
- Evite sujá-las com sangue ou restos da carcaça
- Após a utilização, lave os fatos de trabalho separadamente da restante roupa, com bastante detergente e enxaguando bem
- As botas podem ser lavadas e, em seguida, molhadas com lixívia doméstica forte ou formalina a 5%
- USE LUVAS – é possível recolher amostras com cuidado sem luvas, mas não é recomendado
- As feridas na pele devem ser cobertas com penso impermeável, se possível; mas, se tiver feridas abertas, peça a outra pessoa para recolher as amostras
- Após a recolha de amostras, lave as mãos com bastante água e sabão. Pode usar também um pouco de lixívia doméstica
- Facas e outros instrumentos reutilizáveis devem ser desinfetados com formalina a 5% ou lixívia forte antes de serem lavados com água e sabão
- Todos os outros resíduos (luvas, lâminas de bisturi, etc.) devem ser queimados ou enterrados

Podem ser recolhidos três tipos de amostras, conforme indicado abaixo:

1. Esfregaços de sangue

- As esfregações de sangue são mais bem obtidas a partir de carcaças em estágio 1 e 2 de decomposição, e possivelmente no início do estágio 3
- O “Kit de Esfregaço de Antraz” contém 3 lâminas de vidro (lâminas de microscópio) embrulhadas em papel higiénico, além de uma lâmina de bisturi e uma etiqueta para anotar os detalhes
- A forma de fazer um esfregaço de sangue está descrita na folha anexa intitulada “Como fazer esfregaços de sangue”
- Depois de feitos, os esfregaços devem secar ao ar livre e, em seguida, são novamente embrulhados em papel higiénico (separadamente – NÃO coloque as lâminas juntas, de forma que se toquem) no pedaço de papel higiénico
- O formulário é preenchido e anexado.

2. Amostras de tecido

- Pode ser recolhido de qualquer carcaça que ainda tenha tecido ‘húmido’ ou mole
- Esta amostra pode ser «cultivada» num laboratório de bacteriologia para verificar a presença de antraz.
- Corte um pequeno pedaço de tecido, com cerca de 10mm x 10mm x 10mm, da carcaça com um bisturi
- Pode-se usar uma pinça para segurar o pedaço, mas, se não houver, pode-se usar uma mão com luva ou dois pedaços de pau
- O tecido deve ser recolhido dos músculos, da pele fina (de preferência do pénis ou da vulva, da língua, da pálpebra ou da narina) ou de praticamente qualquer órgão, caso a carcaça tenha sido aberta
- A amostra de tecido é colocada num frasco/tubo com tampa segura, sem contaminar o exterior
- A garrafa, por sua vez, deve ser colocada dentro de um saco de plástico
- Se possível, deve ser mantida refrigerada
- O rótulo deve ser preenchido com os mesmos dados fornecidos para os esfregaços de sangue.

3. Amostras de solo (recolhidas quando não há «material de carcaça húmido» disponível)

- O solo é recolhido em torno de carcaças secas
- Recolha uma quantidade de cerca de uma ou duas colheres de chá de solo
- Esta amostra deve ser recolhida logo abaixo da superfície, onde possa ter ocorrido uma “fuga” de sangue da carcaça antes da decomposição — mesmo que a amostra de solo seja recolhida muito tempo depois
- Isto seria recolhido por baixo da boca/nariz, ou da vulva/reto
- Se a carcaça tiver sido aberta precocemente (por necrófagos), é provável que toda a área esteja contaminada com esporos, e qualquer solo proveniente da parte inferior poderá ser útil
- O solo pode ser recolhido com um pedaço de metal descartável, casca de árvore + pau, etc., e deve ser colocado sobre uma folha de papel e, em seguida, “canalizado” para um frasco com tampa hermética, sem contaminar o exterior
- Devem ser fornecidos os mesmos detalhes que para os esfregaços de sangue.

Depois de recolher as amostras

- Itens como lâminas de bisturi, luvas, paus, papel, etc., devem ser queimados ou enterrados
- Outras ações, como a lavagem de instrumentos, roupa, etc., foram descritas acima.

Envio das amostras

- As amostras devem ser levadas aos escritórios do Departamento Veterinário

Apêndice 6.

Doenças e afeções da fauna selvagem, possivelmente significativas na KAZA (adaptado de Penrith e Thomson, 2012)

Doença	Impacto (Elevado, Médio, Baixo)	Espécie e explicação	Amostras críticas e conservante	Testes laboratoriais
Antraz	H	Múltiplas; elevada mortalidade em algumas espécies; zoonose; infecção do gado	Esfregaço de sangue (AD); esfregaço (Ch); tecido (Ch)	Citologia; PCR; Cultura bacteriana
Pasteurelose (septicemia hemorrágica)	H	Mortalidade em elefantes; também em búfalos; Doença do gado (não transmitida pela vida selvagem); Zoonose (baixo potencial)	Órgãos, incl. cérebro (FS); esfregaço (Ch); Sangue / tecidos (Ch/Fr)	Histo; PCR; Cultura bacteriana
Tuberculose	H	TB bovina: Várias espécies; Zoonose; Doença do gado; controlo impossível; efeito na população em algumas espécies	Esfregaço da lesão (AD); lesão (Ch); lesão, nódulo linfático, órgãos (FS); soro (tuberculina pós-Rx)	Citologia; Cultura bacteriana/PCR; Histo; Serologia IFNy
	H	TB humana: Elefantes (especialmente domésticos), primatas (outros?); Zoonose; possível «fuga» para a população de elefantes selvagens	Esfregaço da lesão (AD); lesão (Ch); lesão, nódulo linfático, órgãos (FS); soro (tuberculina pós-tratamento); soro (Fr)	Citologia; Cultura bacteriana/PCR; Histo; Serologia IFNy; DPP (fluxo lateral)
	M	TB em mangustos: Mangusto-listrado (Zoonose / outras?); efeito a longo prazo na população desconhecido	Esfregaço da lesão (AD); lesão (Ch); Lesão, nódulo linfático, órgãos (FS)	Citologia; Cultura bacteriana/PCR; Histo
Brucelose (Brabortus e melitensis)	M	Búfalo (higroma e aborto); antílope; Zoonose;	Líquido articular (Ch); Soro (Ch); Feto-placenta, pulmão (Ch & FS), Líquido abomasal (Ch)	Cultura; PCR; Histo
Septicemia clostridial / celulite / miosite	M	Mortalidade de elefantes; também búfalos; utilizando recipientes contaminados; Doença do gado (não transmitida pela vida selvagem)	Esfregaço de tecido (AD); esfregaço (Ch)	PCR; FAT; Cultura bacteriana
Botulismo	L	Múltiplos; Raiva / paralisia DD	Soro; conteúdo gástrico / intestinal (Ch/Fr)	PCR; biológico
Enterotoxemia por Clostridium perfringens	L	Rinoceros, (elefante e outros?); geralmente em condições de estresse ou mudança repentina de dieta	Conteúdo do intestino delgado (Ch/Fr); esfregaço intestinal (AD)	PCR; biológico; Citologia
Dermatoflose (doença de Senkobo)	L	Animais selvagens ocasionais (confundida com sarna); Doença do gado	Raspagem cutânea (AD); Lesões cutâneas (Ch); Lesões cutâneas (FS)	Citologia; Cultura bacteriana; Histo
Pleuroneumonia contagiosa bovina (CBPP)	Nenhuma	Não se conhecem casos na fauna selvagem; Doença do gado	Preparação para o diagnóstico	
Gripe aviária H1, H5 e H7 (HPAI)	H	Aves aquáticas; avestruzes (apenas domésticas?); Doença das aves domésticas	Esfregaços cloacais/traqueais em meio viral, pulmão/baço/rim (Ch); Órgãos (FS)	PCR; isolamento do vírus; Histo
Febre aftosa (FMD)	H	Antílope - claudicação (por vezes mortalidade por coronite ou miocardite); Portadores de búfalos; Doença do gado com importância económica	Coração (FS); Lesão e amígdalas (Ch →VM);	Histo; isolamento do vírus e PCR
Raiva	H	Todos, especialmente carnívoros sociais; Zoonose; Doença do gado	Cérebro e/ou medula espinhal (GS e FS + Ch)	IFAT; PCR; Histo (outras encefalites)
Cinomose canina (CDV)	M	Leões, cães selvagens, (outros carnívoros?); Doença dos cães domésticos	Sangue (Ch); Cérebro e pulmão (Ch); Órgãos, incluindo o cérebro (FS); Para teste rápido de antígeno- secreção ocular, soro, urina	PCR; Histo; Kit de teste rápido de antígeno

Apêndice 6. (continuação)

Doenças e afeções da fauna selvagem, possivelmente significativas na KAZA (adaptado de Penrith e Thomson, 2012)

Doença	Impacto (Elevado, Médio, Baixo)	Espécie e explicação	Amostras críticas e conservante	Testes laboratoriais
Febre catarral maligna (MCF) - Alcelafina	M	Búfalos e antílopes (muito raro); Doença do gado (única razão para impacto médio)	Sangue e baço (Ch); Órgãos (FS)	PCR; Histo
Doença de Newcastle (NDV)	M	Aves selvagens, incl. pombas (Paramyxovírus do pombo); Doença das aves domésticas	Esfregaços das coanas em meio viral (Ch); pulmão, baço, rim, cérebro (Ch); Pulmão, baço, rim, cérebro (FS)	PCR; isolamento do vírus; histologia
Papilomatose e sarcoidose	M	Girafa (cancro e mortalidade); zebra (cancro?); leão e leopardo	Lesão (FS e Ch)	Histo; PCR
Febre do Vale do Rift (RVF)	M	Búfalo (aborto) e antílope; Zoonose; Doença do gado	Órgãos (FS); tecidos (Ch); Sangue (Ch)	Histo; isolamento do vírus e PCR
Vírus da encefalite-miocardite	L	Elefante (esp. mortalidade em Ad ♂; associado a 'explosões' de roedores)	Órgãos, esp. coração (FS); sangue e coração (Ch)	Histo; PCR
Vírus do herpes endotélio-trópico (EEHV)	L	Elefante; sarcoma verrugoso em animais jovens; fatal em elefantes asiáticos de zoológico	Língua / Lesão (FS); Sangue (Ch)	Histo; PCR
Peste dos Pequenos Ruminantes (PPR)	L	Não é uma doença da vida selvagem, embora seja possível que exista um reservatório na vida selvagem; Doença do gado	Sangue, gânglios linfáticos, baço, pulmão (Ch); Órgãos (FS)	PCR; isolamento do vírus; Histo
Vírus de Middelburg	L	Rinovírus; Raiva / paralisia DD	Cérebro / medula espinhal (FS & Ch)	Histo; PCR
Vírus Shuni	L	Rinovírus (mortalidade e paralisia DD)	Cérebro / medula espinhal (FS & Ch)	Histo; PCR
Vírus do Nilo Ocidental	L	Crocodilo (+ rinoceronte?); Mortalidade; Zoonose	Cérebro / medula espinhal (FS & Ch)	Histo; PCR
Teileríase	H	Búfalos e antílopes (animais não vacinados); Doença do gado	Esfregaço de sangue / baço / nódulo linfático (AD); Baço (Ch); Órgãos (FS)	Citologia; PCR; Histo
Babesiose	L	Elefante, girafa (fatal), alguns antílopes, pequenos carnívoros (parasitemia elevada); alguma transmissão ao gado	Esfregaço de sangue (AD); Baço e sangue (Ch/Fr); Órgãos (FS)	Citologia; PCR; Histo
Tripanossomiase	M	Rinoceronte branco; fauna selvagem nativa / introduzida; zoonose; doença do gado; a mosca tsé-tsé está ausente na maior parte da KAZA, mas pode regressar	Esfregaço de sangue (AD); sangue (Ch); cérebro + órgãos (FS); LCR (Ch)	Citologia; PCR; Histo
Síndrome Ulcerativa Epizoótica em peixes (EUS)	M	Peixes em alguns sistemas fluviais da KAZA	Lesões (Ch); Lesões (FS)	Cultura; PCR; Histo

Apêndice 6. (continuação)

Doenças e afeções da fauna selvagem, possivelmente significativas na KAZA (adaptado de Penrith e Thomson, 2012)

Doença	Impacto (Elevado, Médio, Baixo)	Espécie e explicação	Amostras críticas e conservante	Testes laboratoriais
Intoxicação - Pesticida (carbamato e organofosfato) (caso forense)	H	Elefantes, rinocerontes, carnívoros que ameaçam o gado, necrófagos, especialmente abutres	Líquido gástrico, fígado, sangue (Ch/Fr); isco (ch)	HPLC e MS (Laboratório de Química); Colinesterase
Envenenamento - Cianeto (caso forense)	H	Elefante e rinoceronte; necrófagos não-alvo, esp. abutres	Fluido gástrico (Ch/Fr); Músculo (Fr)	Teste de campo com picrato de sódio (qualitativo); MS (quantitativo)
Envenenamento - Cianotoxina	M	Elefante e muitas outras espécies	Líquido gástrico (Ch/Fr); Fígado, Cérebro (Fr); Água da panela e sedimentos	HPLC e MS (Laboratório de Química Especializado); Testes com tiras reagentes (Microcistina e Anatoxina a)
Intoxicação - Planta	L	Todos os herbívoros; (Dichapetalum, plantas cianogénicas, por exemplo, Acacia, e muitas outras	Conteúdo gástrico, especialmente folhas e frutos intactos (AD); Líquido gástrico (Ch/Fr)	Identificação da planta; Teste biológico; Teste de campo para cianeto
Parasitas - Externos (carrças, sarna, etc.)	M	Todas as espécies (algumas mais suscetíveis), especialmente indivíduos muito jovens, idosos e com deficiências nutricionais	Avaliação patológica macroscópica; raspagem cutânea (para sarna); pele (FS); parasitas (Alc)	Identificação de parasitas; Histo
Parasitas - Internos (Helmintos, larvas de Oestrid, Pentastomes)	M	Todas as espécies, especialmente animais desmamados, idosos e com deficiência nutricional	Avaliação macroscópica; parasitas (Alc); Órgãos (FS); Fezes (Ch/2%FS)	Identificação de parasitas; Histo; contagem de ovos nas fezes
Desnutrição/ Pobreza	M	Todas as espécies (girafa e kudu — relacionado com o tanino?); idade, densidade das espécies, qualidade/ quantidade da forragem e fatores climáticos; competição por recursos face aos seres humanos e ao gado; resultado final frequentemente preso na lama	Avaliação patológica macroscópica, incl. desgaste dentário e conteúdo do estômago/rúmen; Sobrecarga parasitária secundária Amostras: Órgãos (FS); Parasitas (Alc); Fluido gástrico (Ch/Fr)	Histo; análise de taninos
Traumatismo não natural (casos forenses)	M	Todas as espécies: inclui acidentes rodoviários e caça furtiva com arma de fogo	Avaliação patológica macroscópica; Amostras: balas e cartuchos	Laboratório de balística
Traumatismo natural	L	Todas as espécies. Principalmente Ad ou SAd ♂, agressão hierárquica	Avaliação patológica macroscópica; Nota: # a mandíbula pode não ser observada (rinoceronte)	

Conservantes:

FS = formalina a 10 % em solução salina a 0,9% (salvo indicação em contrário)

Ch = Refrigeração (2 a 6°C)

Fr = Congelamento (<10°C)

AD = Secar ao ar e embrulhar em lenço de papel/papel higiénico

Alc = Etanol a 70% (com adição de 5% de glicerol)

GS = Solução salina tamponada esterilizada a 50%

VM = Meio viral preparado em laboratório (tampão com antimicrobianos)



Apêndice 8.

Registo de autópsia

N.º DE REF. _____

ESPÉCIE _____ GPS/ÁREA _____ DATA _____

IDADE _____ SEXO _____ LACTAÇÃO _____ HORA DA MORTE / ESTÁGIO DE DECOMPOSIÇÃO _____

HISTÓRICO

HISTÓRICO QUE LEVOU À MORTE

POSIÇÃO EM QUE FOI ENCONTRADO / PERTURBAÇÃO, LOCAL

OBSERVAÇÕES EXTERNAS: lesões - perda de pêlo - inchaço - sangue a sair dos orifícios - conjuntiva ocular - anemia - icterícia - cianose - diarreia

ECTOPARASITAS tipo e localização (amostras recolhidas)

ÍNDICE DE CONDIÇÃO CORPORAL (1 A 5 - 1 = emaciado, 5 = obeso) _____ ESFREGADO DE SANGUE S/N _____

DETALHES SUBCUTÂNEOS: quantidade de gordura - hematomas - congestão - outras descolorações

GÂNGLIOS LINFÁTICOS – localização – inchaço (amostra recolhida)

CAVIDADE ABDOMINAL E ÓRGÃOS (PTO para o trato gastrointestinal)

CAVIDADE - líquido claro - pus - aderências

BAÇO - normal - inchaço - hemorragia

FÍGADO - normal - inchaço - descoloração local – parasitas

VESÍCULA BILIAR – enchimento, cor, cálculos biliares

RIM - normal - depósitos de gordura - mole – descolorido **URETERES** - inchados

GLÂNDULAS SUPRARRENAIS - normais - inchaço

BEXIGA - normal - urina escura (café) - vermelha - turva

ÓRGÃOS SEXUAIS: ♀ - Gónadas / Útero (ativo, gravidez / desenvolvimento fetal).

♂ **Pênis, testículos, órgãos acessórios** (tamanho – inchaço – consistência)

Apêndice 8. (continuação)

Registro Post Mortem

CAVIDADE TORÁCICA E ÓRGÃOS

CAVIDADE – líquido claro – pus – aderências; **MEDIASTINO E AORTA** – gordura – descoloração: **TÍMUS** – tamanho – ativo

PULMÕES - colapsados ou não - pesados/cheios de líquido ou sangue - áreas de consolidação - espuma na traqueia; **NÓDULO LINFÁTICO BRONQUIAL** - inflamação

SACO CORACIAL - Líquido - límpido/pus **CORAÇÃO** – Gordura – hemorragia – descoloração – válvulas cardíacas - artérias

TRATO GASTROINTESTINAL. Conteúdo - quantidade - húmido - seco - úlceras – parasitas – descoloração da mucosa **ESÓFAGO E ESTÔMAGO** ou **RUMEN** (rumen, retículo, omaso, abomaso)

INTESTINO DELGADO - conteúdo - sangue - muco – úlceras **MESENTÉRIO E GANGLIOS LINFÁTICOS** – gordura – inchaço

INTESTINO GROSSO - (ceco, cólon, reto) – conteúdo -

PARASITAS INTERNOS - LOCALIZAÇÃO E ABUNDÂNCIA

CABEÇA

CAVIDADE ORAL / LÍNGUA / DENTES - erupção e desgaste

CÉREBRO - abscesso - parasitas - congestão sanguínea - líquido

CAVIDADE NASAL – parasitas - inflamação

GÂNGLIOS LINFÁTICOS E GLÂNDULAS SALIVAIAS – inchaço – abscesso

ESQUELETO - MÚSCULOS E OSSOS

MÚSCULOS GRANDES - hematomas/congestão sanguínea - cicatrizes – calcificação – formação de gases

OSSOS – deformidades - fraturas - fraturas antigas – artrite - medula

RESUMO E DIAGNÓSTICO PRELIMINAR (DDs); NOTAS ADICIONAIS

AMOSTRAS

ASSINATURA: _____ **NOME:** _____