

# **Protocolo para amostragem de importantes doenças da fauna selvagem na Área de Conservação Transfronteiriça Cubango-Zambeze (Kavango-Zambezi)**

**C. Foggin  
2021**



## **PROTOCOLO PARA AMOSTRAGEM DE IMPORTANTES DOENÇAS DA FAUNA SELVAGEM NA ÁREA DE CONSERVAÇÃO TRANSFRONTEIRIÇA CUBANGO-ZAMBEZE (KAVANGO-ZAMBEZI)**

### **Sumário de técnicas de campo práticas, com destaque para Elefantes**

#### **INTRODUÇÃO**

Este Protocolo compreende um Guia de Campo e uma Listagem para Veterinários no terreno e para os seus assistentes, que se deparam com mortalidade de fauna selvagem na região Cubango-Zambeze (Kavango-Zambezi, KAZA), e os quais podem ser chamados de urgência para realizar necropsias (*post-mortem*, PM) e amostragem das carcaças em áreas remotas, sob difíceis circunstâncias. Este documento não pretende abordar todos os possíveis cenários e doenças, ou substituir trabalhos anteriormente publicados em técnicas de PM de fauna selvagem.

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

Sabendo que algumas das doenças que podem ser encontradas são potenciais zoonoses fatais, são aconselhadas as precauções adequadas aquando da realização de PMs, principalmente onde não existem informações prévias. Contudo, é também difícil o uso restrito de Equipamento de Proteção Individual (EPI) nas condições encontradas no terreno, particularmente em ambiente de temperaturas elevadas, ou quando existem outros impedimentos. O risco compreendido tem de ser equilibrado com o impedimento do uso de EPI.

#### **Alguns pontos a considerar:**

1. As zoonoses mais importantes na região KAZA são o Carbúnculo e a Raiva. A febre do Vale do Rift, apesar de não ser mencionada como um dos principais problemas, pode ocorrer. Tuberculose na fauna selvagem é atualmente incomum na região KAZA, com exceção da Tuberculose de Manguços (possivelmente não zoonótica)
2. O conhecimento da presença histórica destas doenças, ou de permanentes surtos nas áreas envolventes, principalmente com animais domésticos, é importante
3. Doenças agudas como o Carbúnculo ou a Pausteurose podem ser inicialmente difíceis de diferenciar de casos de envenenamento agudo natural ou malicioso. Em locais onde múltiplas espécies são encontradas mortas, próximas umas das outras (por vezes incluindo espécies de invertebrados), envenenamento malicioso é provável
4. Uma amostragem mínima deve ser realizada em casos de suspeita de doença zoonótica:
  - Carbúnculo
    - Recolha exclusiva de sangue para realizar um esfregaço, sangue/tecidos superficiais – **NÃO ABRIR A CARCAÇA**
  - Raiva (com EPI apropriado)
    - Remover a cabeça e armazená-la em saco(s) estanque, para ser levada para instalações de biossegurança, onde o cérebro poderá ser removido
    - **Ou** abrir o crânio e remover o cérebro no terreno, usando o EPI apropriado (procedimento executado por membro vacinado contra a raiva)
    - **Ou** desarticular a cabeça e dissecar a peça do tronco cerebral, através do forâmen magnum, usando o EPI apropriado (procedimento executado por membro vacinado contra a raiva)
  - Tuberculose e febre do Vale do Rift
    - Um PM completo pode ser (e provavelmente será) realizado, com cuidado, e com o EPI apropriado, incluindo máscara
1. Regra geral: usar EPI o mais completo possível mas confortável de ser usado no terreno, a não ser em casos de suspeita de patologia zoonótica severa. **O uso de luvas e fato de proteção integral é obrigatório para todos os PMs de campo.**

#### **ANTES DA INTERVENÇÃO (Ver Listagem: Apêndice 1)**

##### **Equipamento para realização de PM – nem todos os itens são essenciais para todos os post-mortems**

- Facas – para esfolar e desossar (são necessárias várias para elefantes e outros mega herbívoros)
- Aço para afiar + limas (ou pedra-óleo/ pedra de amolar)
- Machado e/ou cutelo
- Serra(s) – serra circular ou serra de arco (ou ambas) – para cortar costelas, etc; cortadores de costela são úteis, mas não essenciais
- Tesouras de poda/ Tesouras – para cortar costelas, etc em animais até < 20kg
- Ganchos de carne (múltiplos, afiados e de cabo longo – em alça – para fixação de corda)
- Bisturi e múltiplas lâminas
- Pinças (dentes de rato e bico de pato, com pelo menos 18 cm)
- Tesouras (curvas e direitas, com pelo menos 22 cm)

- Recipientes de plástico para armazenar órgãos (por exemplo, baldes ou ‘banheiras de bebé’)
- Tábua para cortar – painéis de pele, com perfil subcutâneo para cima, podem servir o mesmo propósito
- Cordas de nylon (por exemplo, 3 x 10 m,  $\geq 10$  mm diâmetro)
- Lonas de PVC – 4 a 8 m<sup>2</sup> é preferível
- Pulverizador de dorso (operado a bateria é preferível)
- Recipiente de água de 20 litros (cheio)
- Guincho (operado por veículo é preferível)
- Fita métrica,  $\geq 3$ m
- Mochilas apropriadas para transportar equipamentos soltos, se não existir acesso rodoviário ou de helicóptero
- Sacos de lixo (vários e de plástico resistente)
- Detetor de metais (muitas vezes indisponível)
- Carrinho-de-mão
- Pá
- 5 litros de diesel
- Fósforos (e acendalhas)

#### **EPI, e outros equipamentos adicionais de proteção e de risco biológico**

- Fato de proteção integral
- Máscaras
- Óculos e /ou viseiras
- Luvas – de jardinagem pesada, látex/nitrilo e ao comprimento do ombro; de tamanhos apropriados
- Botas de borracha
- Avental de plástico
- Chapéus de abas largas, guarda-chuva e protetor solar (especialmente para pessoas de pele clara)
- Faixas de suor
- Lixívia (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 pensos à prova de água e pomadas anti-sépticas
- Detergente desinfetante e escova
- Rolo de toalhas descartável

#### **Equipamento de amostragem e de registos**

- Lâminas para sangue (recentemente lavadas com álcool e polidas a seco, ou lavadas no terreno com álcool > 90%)
- Caixas para armazenar lâminas e/ou papel higiénico para embrulhar as lâminas preparadas
- Formalina a 10% em solução salina normal (0.9%) – preferencialmente tamponada; em recipientes estanque (de preferência de plástico)  $\geq 250$ ml
- Álcool a 70% com glicerina 5% - 200ml (para parasitas)
- Recipientes de amostragem de plástico (abertura larga; por exemplo, embalagens de iogurte de 1 litro lavadas)
- Funil de plástico
- Garrafas de plástico estéreis / quase estéreis (por exemplo, garrafas de água mineral de 500ml vazias – geralmente estéreis)
- Tubos de amostragem estéreis – por exemplo 50ml Falcon, 15ml tecido, 10ml topo vermelho, 5ml EDTA topo roxo, crio-tubos 2ml
- Fita isoladora (para vedar os topos)
- Seringas de 10 ou 20ml e agulhas de 14 a 16G
- Zaragatoas bacterianas e tubos de ágar (ágar estéril e de preferência de carvão)
- Sacos de plástico de amostragem – Biohazard ou à prova de adulteração e/ou com padrão zip-lock
- Canetas à prova d’água, além de etiquetas/ fita adesiva
- Camara digital (resistente, possível de desinfetar, com boa qualidade macro; smartphones são menos desejáveis)
- GPS
- Prancheta e folhas de registo /formulários de PM
- Formulários de Cadeia de Custódia (para casos forenses)
- Kit de teste de cianeto de campo – solução de Na-picrato, tiras de papel de filtro, recipiente de 100ml com tampa hermética
- Recipiente de poliestireno e cuvetes de gelo (para amostras que devem ser refrigeradas de imediato)

Os equipamentos levados para o local dependem da acessibilidade, espécie/tamanho do animal e mão-de-obra disponível; priorizar, se limitado.

## **NO TERRENO – PROCEDIMENTO DE PM**

### **Atenção aos pormenores de fundo**

- Anterior, ou persistente, mortalidade na área do cenário, ou nas adjacentes – o que foi diagnosticado anteriormente?
- Única, ou múltiplas, espécies afetadas em casos anteriores
- Mudanças sazonais, climáticas ou ambientais – principalmente súbitas, com variações significantes
- Mudanças ecológicas – dinâmicas populacionais /pressões, populacionais
- Atividade humana ou de fauna selvagem anormal, especialmente se resultado de fatores climáticos

### **Avaliação inicial da carcaça e área em seu redor**

- Única ou múltiplas carcaças (e espécies) – a presença de múltiplas carcaças está frequentemente associada a eventos de envenenamento (natural ou malicioso), ou caça furtiva
- Todas as carcaças devem ser numeradas, fotografadas, sem perturbações, e a localização GPS determinada
- Proximidade à água – determinar tipo de água (corrente, estagnada – curso de água grande ou pequeno; presença de insetos mortos ou aves)
- Proximidade a estruturas naturais de sais/ solo mineralizado (o cianeto, ou outros venenos, podem ser misturados com o sal ambiental)
- Proximidade a atividades humanas, campos de cultivo
- Presença de objetos pouco comuns, frutos não-naturais, plantas tóxicas; frutas exóticas como a laranja ou frutas naturais como o melão podem ser usados para colocar o veneno
- Posição das carcaças:
  - Elefantes em decúbito esternal morreram de forma súbita
  - Elefantes em decúbito lateral, com membros rígidos em extensão, pode ter sofrido uma infeção por Carbúnculo
  - Ruminantes com opistótonos marcado, e com membros rígidos em extensão, podem ter sofrido uma infeção por Carbúnculo
- Evidência de esforço (marcas no solo dos membros em movimento – ‘pedalar’), ou luta, anterior à morte; elefantes com condição corporal reduzida que não são capazes de se erguer, especialmente em solo macio, podem deixar marcados sulcos no solo
- Grau de necrofagia; espécie envolvida; presença de necrófagos mortos (pesticidas/ ocasionalmente cianeto)

### **Exame superficial**

- Se possível, examinar ambos os lados da carcaça; poderá ser impossível em mega-herbívoros, principalmente sem o equipamento adequado ou mão-de-obra suficiente
- Em casos suspeitos de caça furtiva, e em caso de haver um detetor de metais disponível, toda a área subcutânea deverá ser inspecionada dado que a presença de balas poderá ocorrer abaixo da pele
- Estado da decomposição (ver **Apêndice 2**) – Estadio 3, ou superior, quando é possível recolher apenas alguma informação da carcaça, exceto para testar a presença de toxinas residuais e Carbúnculo; ou balas. Por vezes, o conteúdo intestinal da carcaça em Estadio 3-5 poderá fornecer informações sobre o funcionamento intestinal (impactação, ingestão de areia)
- Avaliar condição corporal (ver **Apêndice 3**)
- Idade do animal – de acordo com o tamanho corporal da espécie, medições físicas (occipital/base da cauda, ombro, início da protrusão do marfim, ou perímetro torácico/ membro anterior, dentição (ver **Apêndice 3**))
- Parasitas externos – carraças presentes sobretudo em animais mais fracos/ magros; normalmente abandonam a carcaça depois do animal morrer
- Feridas – tamanho, área afetada, estado de recuperação, fraturas ou deslocamentos óbvios, buracos de balas
- Descoloração da pele – hemorragias visíveis em áreas de pele mais pálida (ex. Carbúnculo)
- Sangue ou fluidos em orifícios – fresco, sem coágulos = Carbúnculo; fluido tingido com sangue em carcaças de estadio 2 ou 3 não são necessariamente indicativos de algo, exceto do estado de decomposição; inúmeras moscas e outros insetos mortos poderão sugerir eventos de envenenamento por cianeto ou pesticida
- Mucosas – conjuntiva, oral, vulva, retal ou prepúcio (cianótica, congestão, pálida, hemorrágica); abutres necrófagos preferem estes primeiro

### Abrir a carcaça

- Colheita de sangue para esfregaço (ver **Apêndice 4** e **Apêndice 5** – espécimen para Carbúnculo); notas adicionais:
  - Sangue periférico é o preferível para detecção de hemoparasitas, mas muitas vezes apenas possível em casos de carcaças em estadio 1 ou estadio 2 inicial
  - Sangue mais profundo, colhido das extremidades, é o melhor em casos de carcaças em estadio 2 e 3 – incisão profunda no aspeto caudal acima do pé / casco; uma facada neste local em elefantes geralmente produz sangue
  - Os esfregaços devem ser realizados à sombra/ área coberta quando as condições de sol quente ou humidade prevalecem
  - As moscas podem destruir esfregaços de sangue desprotegidos, alimentando-se deles. Por isso, é necessário protegê-los/ cobri-los
- Quando se suspeita de Carbúnculo ou Raiva, é necessário restringir/ minimizar o PM, e meramente obter as amostras necessárias (ver Introdução acima, e **Apêndice 6**)
- Sempre que possível, a carcaça deverá estar em decúbito lateral direito, de modo a ser aberta pelo lado esquerdo. Isto permite um acesso inicial ao baço, estômago, rim esquerdo e limite do lobo esquerdo do fígado. Répteis e aves devem ser posicionados em decúbito dorsal, de modo a serem abertos ventralmente
- Quando a única opção é abrir a carcaça pelo lado direito, o trato intestinal poderá ter de ser completamente eviscerado antes de se poder aceder ao estômago e ao baço
- Remover a pele – na totalidade é preferível para uma abordagem mais completa dos tecidos subcutâneos, mas no terreno, apenas é possível em animais até  $\pm 200$  kg
  - Poderá ser necessário em casos de caça furtiva, onde as munições podem ser encontradas debaixo da pele
- Aceder às cavidades:
  - Na maioria das espécies, é possível remover o membro anterior (esquerdo) e o posterior rebatendo os músculos ao nível do ombro e da articulação da anca respetivamente
  - Cortar todos os músculos ao nível das costelas, expondo os ossos
  - Remover os músculos abdominais (esquerdos) e o peritoneu desde a linha-média ventral até à coluna vertebral lombar, expondo as vísceras abdominais
  - Separar o diafragma anexado às costelas (superiores)
  - Remover as costelas (superiores) com uma serra/ machado ao nível do esterno e da coluna vertebral; uma a uma, se necessário
- Pescoço e cabeça:
  - Animais  $<+ 500$ kg: normalmente é possível remover a traqueia (+ esófago) e os pulmões em conjunto; podendo incluir a língua, depois de libertar o tecido interno às mandíbulas
  - O acesso ao cérebro é feito através da separação da coluna vertebral ao nível da articulação do occipital, e, com recurso a serra; abrir ao meio do nariz até ao occipital, depois de remover a pele e os músculos; obtendo duas metades do cérebro
  - Animais maiores – é mais fácil usar um machado para aceder ao cérebro (nas mãos de um operador experiente); ver Introdução acima para amostragem de Raiva
- Elefante:
  - Puxar o membro anterior (topo) para a frente (usando veículo, guincho, ou apenas cordas – prender com ‘nó de camionista’ à volta de uma árvore)
  - Ou remover o membro completamente; poderá ser necessário remover a pele e os ossos inicialmente, dependendo dos equipamentos disponíveis e da mão-de-obra, e se for necessário um acesso total do tórax; cortar ramos de árvores poderá ser útil para suspender o membro enquanto a pele e os ossos são removidos
  - Puxar o membro posterior para trás, com procedimento semelhante ao anterior (ou remover completamente, como descrito anteriormente)
  - Realizar cortes na derme e, rebater a camada de pele abdominal numa única ou em múltiplas peças, da linha média ventral para dorsal
  - Remover os músculos abdominais – poderá ser útil deixar o peritoneu para sustentar os órgãos abdominais na cavidade
  - Remover as costelas, como descrito acima – o recurso a machado é necessário para libertar as costelas ao nível do esterno e dos processos espinhosos; Nota: os pulmões dos elefantes estão aderentes à cavidade torácica e esta adesão necessita de ser removida, cada vez que uma costela é cortada, para que os pulmões permaneçam na cavidade

## Remoção e exame macroscópico dos órgãos

- Observações gerais:
  - Coloração geral dos órgãos (pálidos, ictéricos, roxos/cianóticos)
  - Quantidade de gordura presente
  - Consistência e grau de coagulação do sangue
- Verificar as cavidades para sinais de inflamação, hemorragia, presença de fluido (quantidade, coloração e turbidez) e aderências
- **Potencial caso de risco biológico** – os órgãos podem ser simplesmente amostrados *in situ* assim que a carcaça for aberta; por exemplo, o rim esquerdo, o baço, o conteúdo estomacal, o lobo esquerdo do fígado, o pulmão esquerdo e o músculo cardíaco
- Cavidade abdominal: ordem de remoção sugerida:
  - Baço – tamanho, inchaço (bordos redondos / superfície de corte saliente), hemorragias na superfície (nota: podem ser normais em elefantes) + quaisquer outras descolorações na superfície; coloração/ consistência ao corte
  - Rim (esquerdo) superior – gordura peri-renal, descoloração (coloração, distribuição, tamanho)
  - Adrenal – tamanho, inchaço, hemorragias
  - Trato gastrointestinal:
    - Estômago – se possível, em casos suspeitos de envenenamento, colher uma amostra do conteúdo (ver abaixo, tópico de amostragem), **antes deste ser removido do abdómen**; cortar através do esófago ao nível do diafragma, e remover da cavidade abdominal; normalmente é preferível atar o estômago com uma corda de nylon multi-filamentosa / em ambas as extremidades (cardia e piloro) antes de romper e remover a unidade
    - O estômago de um elefante, ou rúmen, é demasiado pesado para ser facilmente manuseado, e deverá ser parcialmente esvaziado inicialmente com auxílio de um carrinho-de-mão ou uma lona de PVC, usada como ‘trenó’ para facilitar o processo; se necessário, re-suturar
    - Libertar o duodeno do ducto biliar comum, destacando o intestino delgado do mesentério enquanto este é extraído do abdómen; em ruminantes ou em espécies de mamíferos com estômago simples, o intestino grosso é extraído juntamente com o delgado
    - Em mega-herbívoros, o intestino grosso de fermentadores posteriores (hindgut) é manipulado como o estômago
    - Espalhar os intestinos, preferencialmente numa superfície lisa, ou, se no terreno, usar lonas de PVC como superfícies limpas
    - Excluindo a amostragem para toxicologia, o acesso patológico do trato gastrointestinal é idealmente realizado no fim do procedimento PM (ver abaixo)
  - Fígado – separar do diafragma e remover – verificar inchaço, parasitas, descoloração local ou geral;
  - Vesícula biliar (ausente nos fermentadores posteriores e duiker comum) – verificar enchimento, coloração / consistência da biliar; sedimento/pedras biliares em elefantes pode ocorrer nos grandes ductos biliares na ausência de vesicular biliar
  - Rim direito – removido em muitos casos com o fígado; exame igual ao esquerdo
  - Bexiga – verificar quantidade, coloração (por exemplo, presença de sangue) na urina
  - Útero – verificar se gestante; medição do comprimento cabeça/coxa do feto
  - Testículos – adjacentes caudalmente aos rins em elefantes, ou externos, apesar no caso dos rinocerontes se encontrarem na membrana prepucial; verificar tamanho, consistência e inflamação
- Cavidade torácica – em animais com < ± 500kg – traqueia, pulmões, esófago e coração são removidos em conjunto; o coração de um elefante pode pesar 25kg e, por isso, o coração e cada pulmão devem ser removidos separadamente com o auxílio de ganchos de carne; o pericárdio é aberto em primeiro lugar, *in situ*, no elefante
  - Cavidade torácica – verificar aderências (normais em elefantes), presença de fluido (quantidade e consistência)
  - Pericárdio e coração – verificar presença de fluido/pus no pericárdio; hemorragias na superfície ou no interior do músculo; quantidade de gordura coronária, também chamada de ‘gordura aquosa’; áreas pálidas na superfície de corte; verificar válvulas cardíacas para inchado ou aderências inflamatórias

- Traqueia e brônquios maiores – verificar presença de fluido, espuma, sangue, ingesta (comum em casos de aspiração em ruminantes)
- Pulmões – verificar se colapsados ou não; presença de fluido ou sangue, pesados; áreas de consolidação; espuma na traqueia; parasitas na traqueia e brônquios
- Cabeça (ver acima para o acesso aos órgãos)
  - Língua e gengivas – verificar se presença de úlceras, abscessos
  - Dentes – verificar anormalidades de revestimento, dentes em falta
  - Cavidade nasal – verificar se presença de parasitas (insetos, larvas), inflamação
  - Linfonodos e glândula salivares – verificar se presença de inflamação/ abscessos
  - Cérebro e meninges – verificar se presença de congestão/ hemorragia /edema, abscessos
- Músculo-esquelético
  - Abrir articulações com sinais óbvios de inchaço – verificar presença de excesso de líquido sinovial ou pus
  - Realizar incisões em blocos de músculo maiores, principalmente em regiões inchadas – verificar presença de hemorragia ou necrose
- Medula espinal
  - Abri rem casos de paralisia/parese posterior
  - Usar machado ou cutelo para realizar incisões ao longo da coluna, acima da medula espinal Ou
  - Usando uma serra, realizar incisões duplas através da coluna com aproximadamente 8cm de distância entre elas e ‘provocar’ a medula espinal para fora do canal na seção de corte Ou
  - Remover a cabeça e realizar uma excisão numa seção pequena da medula espinal, exposta através do forâmen magnum e canal espinal
  - Verificar presença de compressões, abscessos, ferimentos traumáticos

## Procedimentos para amostragem

### A. Considerações gerais

1. Quatro cenários de diagnóstico; variedade de espécimen podem depender disso:
  - i. Confirmação de um diagnóstico de campo óbvio, realizado através dos resultados patológicos de exame macroscópico (poucos espécimen-alvo)
  - ii. Confirmação de um diagnóstico de campo relativamente óbvio, ou suspeito, mas também verificar outras condições para propósitos de vigilância (múltiplos espécimen)
  - iii. Causa de morte desconhecida, mas relativamente boa qualidade de amostras frescas disponíveis (múltiplas amostras)
  - iv. Causa de morte desconhecida, e fraca qualidade de amostras (poucos espécimen-alvo)

Embora pareça melhor colher inúmeras amostras no terreno sempre que possível, o excesso de amostragem poderá sobrecarregar os recursos de diagnóstico ou de armazenamento, e não ser otimizado de forma adequada. Amostragem direcionada (espécimen-alvo) no terreno, ou racionalização de múltiplas amostragens durante o trabalho laboratorial subsequente numa fase pré-processamento, poderá ser mais satisfatório.

2. Amostras direcionadas e de boa qualidade, bem-preservedas, representam obviamente melhor resultados.
3. As amostras devem ser colocadas no local mais fresco possível no terreno e durante o seu transporte até à base, desde que não necessitem de conservantes específicos. Jornais humedecidos ou mesmo vegetação húmida podem ser usados para envolver recipientes devidamente selados, e é um método de refrigeração útil se nenhum outro estiver disponível.

### B. Listagem de potenciais amostras

#### Ver Apêndice 6 com Listagem de algumas potenciais doenças / Condições e amostras

1. Citologia
  - Esfregaço de sangue – como descrito acima; primeira amostra a ser colhida
  - Esfregaços de impressões ou raspagens
    - Baço
    - Linfonodo
    - Estômago
    - Duodeno/ Jejuno
    - Cérebro e/ou meninges

- Qualquer lesão purulenta
2. Histopatologia – em solução com 10% de formalina/ solução salina normal; tamanho de  $\pm 4 \times 2 \times 2$  cm, ou inferior (aproximadamente metade de um polegar); com bordos intatos; sem excesso de sangue; incluindo quaisquer leões + tecido adjacente ‘normal’
- Baço
  - Fígado
  - Rim – incluindo córtex e medula
  - Adrenal – incluindo córtex e medula
  - Pulmão
  - Coração
  - Músculo esquelético (diafragma, coxa e/ou ombro)
  - Linfonodo – periférico e visceral (especialmente se ‘anormal’)
  - Trato Gastrointestinal – estômago/rúmen, duodeno, jejuno, ceco
  - Cérebro – de qualquer animal >20kg, seção longitudinal; de qualquer animal >100kg, seção longitudinal e transversal – o último em múltiplas vezes dependendo do tamanho; armazenar em ‘tubos’ ou sacos de plástico com 10% formalina/solução salina (não em recipientes de abertura estreita)
  - Medula espinal – cranial e caudal, se possível
  - Qualquer outro tecido com aparência anormal
3. Bacteriologia – usar zaragatoas com ágar de carvão, ou pelo menos, zaragatoas com ágar; refrigerar
- Sangue do coração
  - Cérebro
  - Fígado/ Baço, geralmente pouco gratificante
  - Periferia de leões purulentas, especialmente se múltiplas
  - Fluido do intestino delgado -  $\geq 2$ ml; onde suspeita de septicemia de *Clostridium*
4. PCR / virologia – amostras com o tamanho ‘da ponta de um dedo’; refrigerar ou congelar
- Sangue (1 a 2ml)
  - Baço
  - Fígado
  - Rim
  - Pulmão
  - Cérebro
  - Fluido vesical ou epitélio em casos de febre aftosa
  - Outros órgãos ou tecidos com evidência de inflamação
5. Toxicologia – refrigerar ou, preferencialmente, congelar
- Fluido estomacal – não menos que 100ml se fluido, ou 500g se conteúdo seco
    - Caso o conteúdo seja relativamente seco, espremer o mesmo vai permitir que o conteúdo passe por um funil e seja armazenado num recipiente (por exemplo tubo Falcon, tubo ou garrafa) Ou
    - Colher o fluido comum tubo de boca larga, e decantar para um tubo/garrafa
  - Fígado – 50 a 100g (refrigerado / congelado)
  - Rim – caso o fígado não seja possível (como acima)
  - Sangue / soro -  $\geq 5$ ml (se suspeita de botulismo ou pesticidas)
6. Amostras especiais para Doenças Específicas – ver listagem em **Apêndice 6**
7. Amostras forenses e recipientes
- Unidades de Investigação de Cenários de Crime devem estar presentes (Polícia da Autoridade dos Parques)

- Usar sacos à prova de adulteração para amostras intatas ou para armazenas (múltiplos) tubos de amostragem
- Podem ser usados sacos de plástico estanque; selados com fita adesiva, e com assinaturas por cima da selagem + saco
- Formulários de Cadeia de Custódia devem ser preenchidos no local (ver abaixo)

## Registos

- As coordenadas GPS devem ser registadas para cada carcaça, e anotadas no Relatório de PM (e no Relatório de Cenário de Crime, se relevante)
- Todas as amostras devem ser rotuladas – incluindo a data, a identificação do PM (identificação da espécie e da carcaça, se relevante), tecidos de origem se não forem óbvios
- Rótulos detalhados para amostras forenses; incluindo os seguintes dados:
  - Data e hora da colheita
  - Identificação da carcaça (para a data respetiva)
  - Identificação da amostra (para a data respetiva) e número
  - Identificação da pessoa que efetuou a colheita
  - Dados da amostra (espécie, órgão/ substância)
  - Cada número da amostra deverá ser identificado e deverá corresponder ao indicado no Relatório de Cenário de Crime
  - O Formulário de Cadeia de Custódia deverá ser preenchido (**Apêndice 7**); e deverá ser acompanhado de amostras forenses
- Fotografias devem incluir:
  - O cenário antes da intervenção; incluindo diferentes aspetos da(s) carcaça(s)
  - Passos na abertura da carcaça
  - Órgãos *in situ*
  - Órgãos individualmente; incluindo as lesões com opção macro/ plano aproximado
  - Amostragem/ amostras
  - Operações de limpeza

As fotografias devem ser tiradas de modo que um observador, que não esteve envolvido no procedimento, esteja orientado; por exemplo, uma fotografia com um plano aproximado de um órgão poderá não ter significado para alguém que não presenciou o momento em que a fotografia foi tirada.

- O Relatório PM deverá ser completado e assinado – ver **Apêndice 8** para sugestão de formato

## NO TERRENO – LIMPEZA

### Rotina de descartar carcaças

- Muitas carcaças podem ser deixadas para necrófagos as eliminarem em áreas de conservação apropriadas; mas não em áreas com atividade humana
- As carcaças com potencial perigoso são aquelas suscetíveis de serem infecciosas ou tóxicas para outros animais ou humanos (que podem também limpar as carcaças)
  - Queimar, ou enterrar, no local, se possível; incluindo conteúdo intestinal que poderá ser espalhado
  - Cobrir carcaças não-queimadas com soda cáustica ou Quicklime; mesmo que sejam enterradas; incluindo solo contaminado
- Se for impossível queimar / enterrar a carcaça, considerar:
  - Cobrir com diesel... e acender, se for pouco provável que venha a causar um incêndio
  - Cobrir completamente com plástico ou ramos (possivelmente após cobrir com diesel)
  - Guardar a carcaça até Estadio 3 de decomposição

### Limpeza em caso de Envenenamento / Derramamento de veneno

- Carcaça envenenada
  - Recolher todos os vestígios de veneno e queimar completamente o local (atenção ao vento!)
  - Qu recolha em sacos de plástico e incinerar com recurso a um incinerador apropriado
  - Devem ser incluídos vestígios de conteúdo intestinal



- Derramamento de veneno
  - Remover e enterrar (ou queimar) solo contaminado
  - Inundar o resto da área onde os venenos estiveram presentes e/ou
  - Usar descontaminantes químicos – por exemplo soda cáustica ou Quicklime
- Descontaminação para cianeto
  - O cianeto desaparece, por normal, bastante rápido, principalmente se humidade/ dissolvido; tempo de meia vida do cianeto in solução é de aproximadamente 2 horas
  - ‘Cakelets’ de cianeto (blocos de 20g com NaCN, usados para processar minérios de ouro) devem ser removidos do cenário e neutralizados noutra local
  - Os químicos que podem ser usados para o cianeto incluem:
    - Ácido de piscina (ácido hidróclórico)
    - Cloro de piscina (hidróclorito de cálcio ou ‘hth’)
    - Devem ser usados com humidade, por exemplo, adicionando água depois de usar
    - Ter em atenção o gás libertado de HCN, altamente tóxico
    - Se nada mais estiver disponível, inundar a área e colocar guardas no local por 1 a 2 dias
- Para cursos de água contaminados/ charcos
  - Tentar drenagem e mantê-los secos posteriormente
  - e/ou vigiar o local durante  $\pm$  5 dias

#### Referências:

Lane, E.P., Foggin, C.M. & Kock, N. (2012). **Necropsy techniques**. In Chemical and Physical restraint of Wild Animals, 2<sup>nd</sup> Edition, (M.D. Kock & R. Burroughs eds.). International Wildlife Veterinary Services (Africa). ISBN 978-062052162-8; pgs. 339-349

Penrith, M-L and Thomson, G (2012). **Analysis of the Status of Transboundary Animal Diseases and Their Control in the SADC Region During the Period 2005-2011, Focusing on the Five Countries that Contribute Land to the Kavango Zambezi (KAZA) Transfrontier Conservation Area (TFCA)**. Technical Report to the Wildlife Conservation Society’s AHEAD Program. 72 pp. [http://www.wcs-ahead.org/workinggrps\\_kaza.html](http://www.wcs-ahead.org/workinggrps_kaza.html).

Woodford, M.H., Keet, D.F., Bengis, R.G. (2000). **Post-mortem procedures for wildlife veterinarians and field biologists**. M.H. Woodford, ed.) Published by OIE, Care for the Wild and Veterinary Specialist Group/Species Survival Commission. pp 55. ISBN92-9044-491-6

## Apêndice 1.

### POST-MORTEM NO TERRENO: LISTAGEM

#### Equipamento para realização de PM

- Facas – para esfolar e desossar
- Aço para afiar + limas (ou pedra-óleo/ pedra de amolar)
- Machado
- Cutelo
- Serra(s) – serra circular ou serra de arco
- Tesouras de poda/ Tesouras
- Ganchos de carne
- Bisturi e múltiplas lâminasdes
- Pinças (dentes de rato e bico de pato)
- Tesouras (curvas e direitas)
- Recipientes de plástico para armazenar órgãos
- Tábua para cortar
- Cordas de nylon
- Lonas de PVC
- Pulverizador de dorso
- Recipiente de água de 20 litros
- Guincho
- Fita métrica, > 3m
- Mochilas
- Sacos de lixo
- Detetor de metais
- Carrinho-de-mão
- Pá
- Fósforos e acendalhas
- 5 litros de diesel

#### EPI, e outros equipamentos adicionais de proteção e de risco biológico

- Fato de proteção integral
- Máscaras
- Óculos e /ou viseiras
- Luvas – de jardinagem pesada, látex/nitrilo e ao comprimento do ombro
- Botas de borracha
- Avental de plástico
- Chapéus de abas largas
- Guarda-chuva
- Protetor solar
- Faixas de suor
- Lixívia (1 a 2 litros)
- Pulverizador manual – 1 a 2 litros (lixívia)
- Garrafas de plástico com água potável (congeladas)
- Material de pensos à prova de água e pomadas anti-sépticas
- Detergente desinfetante e escova
- Rolo de toalhas descartável

#### Equipamento de amostragem e de registos

- Lâminas para sangue
- Álcool para lavar as lâminas
- Caixas para armazenar lâminas e/ou papel higiénico
- Recipientes com 10% formalina-solução salina $\geq$  250ml
- 70% álcool com 5% glicerina
- Recipientes de amostragem de plástico (iogurte)
- Funil de plastico
- Garrafas de plástico estéreis
- Tubos Falcon (50ml)
- Tubos para tecidos (15ml)
- Tubos topo vermelho (10ml)
- Tubos EDTA (5ml)
- Criotubos (2 + 5ml)
- Fita isoladora
- Seringas (10 ou 20ml)
- Agulhas (14 ou 16G)
- Zaragatoas bacterianas e tubos de ágar (carvão)
- Sacos de plástico de amostragem (à prova de adulteração, Zip-
- Canetas à prova de água
- Etiquetas/ fita adesiva
- Camara digital
- GPS
- Prancheta e folhas de registo /formulários de PM
- Formulários de Cadeia de Custódia
- Kit de teste de cianeto de campo (Na picrate etc.)

#### Itens adicionais

Apêndice 2.

ESTADIOS DE DECOMPOSIÇÃO DAS CARÇAÇAS

ESTADIO	TEMPO	ALTERAÇÕES	INSETOS
1	0 a 6 hrs	"Normal" Rigor (rigidez) começa	Moscas Calliphoridae - ovos
2	6 a 48 hrs	Timpanismo (abdómen) Início de cheiro	Moscas Calliphoridae - larvas Desenvolvimento larvas
3	2 a 10 dias	Muito timpanismo (gás por baixo da pele) Cheiro intenso (devido à amónia) Torna-se esponjoso  Desinsuflação Torna-se líquido	Moscas Calliphoridae - larvas tamanho completo (4 cm)  Larvas desaparecem (enterradas) Besouros e outros insetos
4	10 a 21 dias	Carcaça seca  Pele separa-se facilmente dos ossos Pele torna-se mais rija	Moscas Calliphoridae - larvas desaparecem
5	3 semanas a meses	Pele contraí e começa a quebrar Carcaça ainda mantém a 'forma' Pele desaparece	Traças com cornos
6	Meses a anos	Ossos apenas - ligeiramente húmida a SECA	

Afetado por: tamanho do animal, doença, necrofagos, temperatura ambiente, chuva

### Apêndice 3. Escala de condição corporal e idade

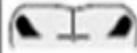
#### Escala de condição corporal (BCS)

O quão salientes estão os ossos

- Ossos da anca
- Osso das costas
- Costelas

Escala 1 a 5

- 1 = muito magro (emaciado)
- 2 = magro
- 3 = normal
- 4 = boa condição (gordura)
- 5 = Muito gordo (obeso)

Body Condition Score	Vertebrae (middle of the back)	Hook bones (Rear view)	Line between the hook and pin bones	Cavity between tail head and pin bone
1. Deep depression in loin				
2. Depression visible in loin area				
3. Slight depression in loin area				
4. No depression in loin area				
5. Short ribs covered with thick layer of fatty tissue				

#### Escala da idade do animal

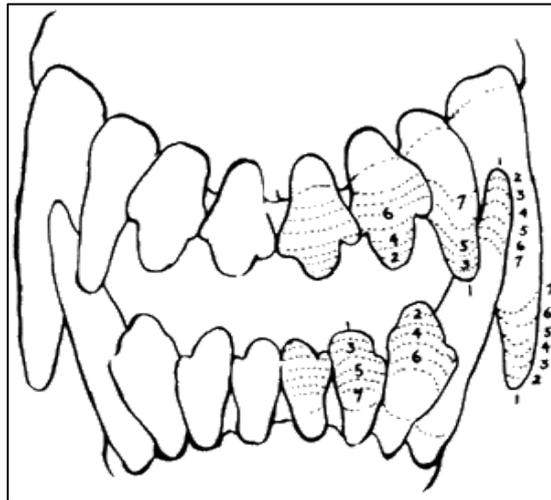
##### On size and breeding

- Bebe (Jj) - nascido recentemente
- Juvenil (J) - ainda com a mãe
- Sub-adulto (Sa) - sem a mãe, ainda pequeno
- Jovem adult (Ay) – quase completamente crescido: sem reproduzir
- Adulto (A) - reproduz
- Sénior/Geriátrico (Aa) - quase no fim de vida

##### Dentição

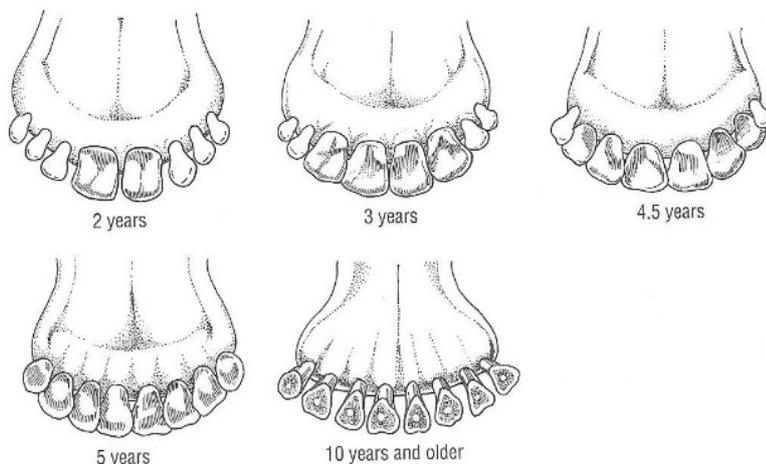
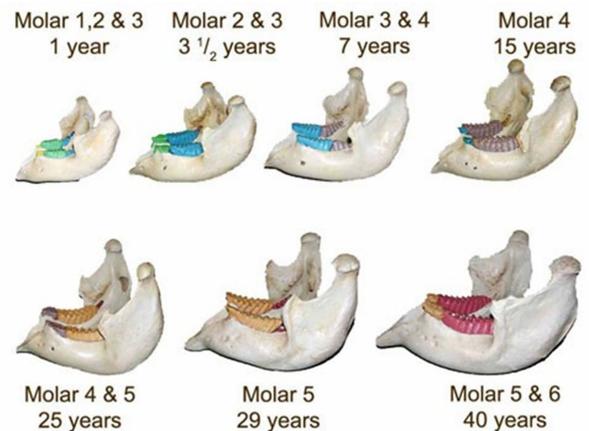
- Dentição de leite
- Mudança de dentes (dentição de leite e dentição adulta)
- Dentição adulta completa
- Dentição adulta desgastada

Dentição Leão	
2-4 semanas	I1-4 e C exterior
6-8 meses	I 1-2 exterior
12-14 meses	C exterior e crescendo
2 anos	C completamente exterior
3-4 anos	I1-4 completamente exterior e C desgastados
5-9 anos	I1-4 e C desgastados (diagrama)
10-14 anos	I1-4 e C muito desgastados / partidos



**Dentição elefante de acordo com a idade – e também comprimento dos marfins : marfins emergem com  $\pm$  30 meses de idade**

Molar	Erupção dos molares	Perda dos molares
I	Nascimento – 5 lamellae	2 anos
II	Nascimento – 7 lamellae	6 anos
III	1 ano – 10 lamellae	13-15 anos
IV	6 anos – 10 lamellae	28 anos
V	18 anos – 12 lamellae	43 anos
VI	30 anos – 13 lamellae	65+ anos



**Dentição Búfalo de acordo com a idade**

## Apêndice 4. Esfregaço de sangue

Exceto quando preparado para examinar presença de microfilarias ou trypanosomas, os esfregaços de sangue devem ter uma camada fina. A camada deve permitir a leitura do texto de um jornal através do esfregaço. Nas circunstâncias acima referidas, existem vantagens em realizar um esfregaço com uma camada mais grossa e outra mais fina de sangue na mesma lâmina. Em todos os casos, os esfregaços devem secar rapidamente, ser identificados/rotulados com lápis diamante ou de cera, e enrolados (em tecido/ papel higiênico) ou armazenados em caixas para prevenir estragos provocados por insetos. Esfregaços com camadas finas podem ser fixados mergulhando a lâmina em metil-álcool, mas camadas mais grossas não fixam. Os esfregaços devem ser preferencialmente feitos a partir de sangue venoso, colhido de um animal vivo, mas esfregaços de animais que morreram recentemente podem ser realizados através do corte de uma orelha. Sangue periférico de capilares é desejável para esfregaços de modo a facilitar a detecção de microfilarias, que são frequentemente cíclicas na sua aparência no sangue periférico (Fig. 5)

Esfregaços de sangue com camada grossa podem ser realizados com uma gota de sangue colocada numa lâmina e espalhada com movimentos circulares usando o canto de outra lâmina, ou até a extremidade de um fósforo limpo e seco. A gota 'espalhada' deve ser opaca e com cerca de 1cm de diâmetro.

Esfregaços de sangue com camada fina devem ser realizados da seguinte maneira: usar uma lâmina limpa (preferencialmente lavada em álcool e seca ao ar), colocada numa superfície horizontal, e uma gota de sangue fresco (com ou sem anti-coagulante) deve ser colocada numa das extremidades. Uma segunda lâmina, com os cantos cortados, deve ser manuseada num ângulo agudo, arrastando a gota de sangue na primeira lâmina até à extremidade oposta. Quando o sangue estiver espalhado uniformemente ao longo da lâmina, a segunda lâmina usada deve ser rapidamente retirada. É necessário manter uma pressão constante sobre as lâminas enquanto o sangue é espalhado para obter o esfregaço. O esfregaço deve secar ao ar. Exposição a moscas deve ser evitada.

### Notas especificamente para Antraz

Para esfregaços de casos suspeitos de Antraz, que podem estar degradados, o procedimento a seguir deve ser:

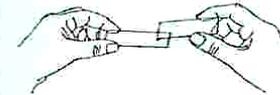
- Usar luvas descartáveis, se disponíveis
- Usando uma lâmina bisturi, cortar a parte de trás de um pé, acima do casco (em animais com cascos)
- Assim que o sangue aparecer, colher com a ponta do bisturi e transferir a gota para uma lâmina (indicado no diagrama)
- Espalhar a gota de modo a produzir o esfregaço, como demonstrado, e seguir os restantes passos do procedimento

Se uma carcaça não foi ainda aberta, existe uma fraca probabilidade deste procedimento levar à formação de esporos de antraz, mas o contato com a carcaça deve ser restringido. As luvas e o bisturi devem ser descartados ou, juntamente com a carcaça, queimados ou enterrados.

Carnívoros, como leões e leopardos, podem desenvolver antraz localizado. Se existirem sinais óbvios de inchaço na cabeça ou pescoço, é importante realizar um esfregaço a partir do fluido/sangue por baixo da pele nestas áreas, usando o mesmo procedimento descrito para um esfregaço de sangue.

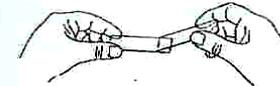
Se não existir sangue, um pedaço de carne/pele deverá ser amostrado e mantido num recipiente. Se não existir carne (carcaça antiga), amostras de solo por baixo da carcaça devem ser amostradas e armazenadas num recipiente.

## Making blood smears



5a Transfer the drop of blood

Hold another clean microscope slide firmly on a flat surface and transfer the drop of blood on the corner of the **spreader slide** to the end of this second slide, about 1 cm from its edge



5b Spreader slide at 30° angle

The drop of blood should now be spread by touching the edge of the spreader to the microscope slide at any angle of 30°, slightly in front of the **droplet** (Fig. 5b), **and then** gently drawing the spreader backwards until it touches the droplet (Fig. 5c)

The blood will now flow along the width of the spreader (Fig. 5d)

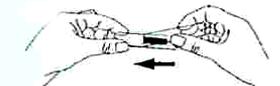


5c Draw spreader backwards



5d Blood runs between the slides

If there is too much blood, lift the spreader and move it a few millimetres forwards and touch the microscope slide again. This process can be repeated until you are satisfied that there is not too much blood



5e Move spreader slide

The **spreader slide** is now, whilst being held against the smear slide, moved forward quickly and smoothly away from the drop of blood towards the far end of the microscope slide, drawing the blood with it (Fig. 5e). This should leave a characteristic-shaped smear which tails off towards its end. Remember that the thinner the smear, the better

Leave the slide with the smear to air-dry

### Special precautions when making smears

- ◆ Only use standard glass microscope slides!
- ◆ All slides must be perfectly clean and dry before use
- ◆ Avoid contamination of the droplet of blood with dirt, water, faeces, etc.
- ◆ The droplet of blood must not be too big or the smear will be too thick and unsuitable for examination
- ◆ Keep hands/fingers off the surface of the specimen slide
- ◆ When spreading the blood, the **spreader slide** must be moved smoothly, steadily and continuously right along the specimen slide. If the movement is too fast or is jerky, an irregular smear will result
- ◆ Spread the droplet of blood before it starts to clot
- ◆ Leave smears to dry as rapidly as possible whilst protecting them from flies as they will destroy the specimen. Allow the smears to dry completely
- ◆ Do not refrigerate

**Fig. 5**  
**Making blood smears**

Courtesy: Onderstepoort Veterinary Institute, Pretoria, South Africa

## **Apêndice 5. CARBÚNCULO: COLHEITA DE AMOSTRAS PARA DIAGNÓSTICO**

### **Informação geral**

- Atenção dado que pessoas podem infectar-se com carbúnculo
- Enquanto se efetua colheita de amostras para carbúnculo, é possível infectar-se e desenvolver carbúnculo cutâneo, caso haja cortes acidentais ou feridas abertas
- Carbúnculo cutâneo pode ser facilmente tratado com antibióticos

Precauções simples, como as descritas abaixo, devem tornar o processo praticamente livre de risco.

- A bactéria do carbúnculo dentro da carcaça acaba por morrer ao fim de alguns dias após a morte do animal
- Se a carcaça não está aberta, a contaminação circulante é reduzida
- ESPOROS de carbúnculo formam-se apenas se a carcaça for aberta e espalhada
- Estes esporos são muito resistentes ao calor, desinfetantes e dessecação (secagem) e podem sobreviver durante muito anos
- Desta forma, quando forem realizadas colheitas de amostras com carbúnculo, distúrbios mínimos da carcaça são preferíveis

### **Precauções**

- Se possível, usar roupa de proteção, preferencialmente botas de borracha e fatos de proteção integral
- Evitar ficar coberto de sangue ou material da carcaça
- Depois de usados, lavar os equipamentos separadamente de outras roupas com muito detergente e deixar secar
- As botas podem ser lavadas e desinfetadas com lixívia ou formalina 5%
- USAR LUVAS – é possível realizar a colheita de amostras cuidadosamente sem luvas, mas não é recomendado
- Feridas na pele devem ser cobertas com equipamento à prova de água, se possível; mas será preferível delegar a colheita a outro membro da equipa se as feridas estiverem abertas
- Depois da amostragem, lavar as mãos com água e sabão. Lixívia pode também ser usada
- Facas e outros instrumentos reutilizáveis devem ser desinfetados com formalina a 5% ou lixívia concentrada antes de usar água e sabão
- Todo o material descartável (luvas, bisturi, etc) deverá ser queimado ou enterrado

**Três tipos de amostras que devem ser colhidas, como indicado abaixo:**

#### **1. Esfregaços de sangue**

- Esfregaço de sangue são melhores com carcaças em estadio de decomposição 1 e 2, e possivelmente estadio 3 inicial
- O ‘kit de esfregaço de carbúnculo’ deve conter 3 lâminas, enroladas em papel higiénico, juntamente com uma lâmina bisturi e material de rotulagem
- A realização de um esfregaço de sangue está descrita no anexo ‘Como realizar um esfregaço de sangue’
- Assim que realizado o esfregaço, este deve secar ao ar e ser enrolado em papel higiénico (separadamente – evitar contacto entre as diferentes lâminas)
- O formulário deve ser completado e anexado

## 2. Amostras de tecidos

- Podem ser realizadas a partir de qualquer carcaça ainda ‘húmida’ ou a partir dos seus tecidos moles
- As amostras podem ser usadas para culturas de bacteriologia em laboratório para confirmar carbúnculo
- Pequenas peças de tecido devem ser cortadas com 10mm x 10mm x 10mm usando um bisturi
- Pinças podem ser usadas para manipular a peça, mas se não estiverem disponíveis, a manipulação pode ser realizada manualmente com luvas ou com 2 pequenos paus
- O tecido deve ser colhido de músculos, ou pele fina (preferencialmente do pênis ou vulva, língua, pálpebra ou narina), ou virtualmente qualquer órgão caso a carcaça tenha sido aberta
- A amostra de tecido deve ser armazenada num recipiente/ tubo selado, sem contaminação externa
- O recipiente deve depois ser colocado num saco de plástico
- Deverá ser refrigerado, se possível
- A etiqueta/rótulo deve ser completada com os mesmos dados dos esfregaços de sangue

## 3. Amostra de solo (colheita quando não existe nenhum ‘material de carcaça húmida’ disponível)

- A amostra de solo deve ser colhida à volta da carcaça seca
- Amostra de solo deve ser cerca de 1-2 colheres de chá
- Deve ser amostrada a superfície suscetível a extravasamentos de sangue da carcaça, e que poderá ter ocorrido antes da decomposição – mesmo que o solo seja amostrado muito tempo depois
- Debaixo da boca/narinas ou vulva/ reto são locais de eleição
- Se a carcaça tiver sido aberta anteriormente (por necrófagos), então toda a área pode ser amostrada dado que poderá estar contaminada com esporos, e o solo debaixo da carcaça poderá ser útil
- O solo pode ser amostrado com uma peça de metal ou madeira descartável, e deve ser colocado num papel ‘afunilado’ para o interior de um recipiente, corretamente selado e sem contaminação externa
- Os dados, tal como nos esfregaços de sangue, devem ser registados

### Depois de ter realizado a amostragem

- Os itens como bisturis, luvas, paus, papel etc. devem ser queimados ou enterrados
- Outras ações como lavagem dos equipamentos e roupas, etc. devem ser realizados como descritos acima

### Submeter amostras

- As amostras devem ser submetidas para os Departamentos Veterinários Oficiais

## Apêndice 6.

### Doenças e condições da fauna selvagem, possivelmente significantes na região KAZA (adaptado de Penrith and Thomson, 2012)

Doença	Impacto (elevado - H, médio - M, baixo - L)	Espécies e explicação	Amostras críticas e conservantes	Testes laboratoriais
Carbúnculo	H	Múltiplas; elevada mortalidade em certas espécies; zoonose; infecção do gado	Esfregaço (AD); zaragatoa (Ch); tecido (Ch)	Citologia; PCR; cultura bacteriana
Pasteurelose (septicemia hemorrágica)	H	Mortalidade de elefantes e búfalos; doença do gado (não via fauna selvagem); Zoonose (baixo risco)	órgãos, incl. cérebro (FS); zaragatoa (Ch); sangue/ tecidos (Ch/Fr)	Histo; PCR; cultura bacteriana
Tuberculose	H	<b>TBbovina</b> : múltiplas espécies; zoonose; doença do gado; controle impossível; efeito populacional em certas espécies	Esfregaço da lesão (AD); lesão (Ch); Lesão, linfonodo, órgãos (FS); soro (post-Rx tuberculina)	Citologia; cultura bact/PCR; Histo; IFNy sorologia
	H	<b>TBhumana</b> : Elefante (especialmente em cativeiro), primatas (outros?); zoonose; Pode ser transmitida para a população de elefantes selvagens	Esfregaço da lesão (AD); lesão (Ch); Lesion, linfonodos, órgãos (FS); soro (post-Rx tuberculina); soro (Fr)	Citologia; cultura bact/PCR; Histo; IFNy sorologia; DPP (lateral flow)
	M	<b>TBmanguço</b> : manguço (Zoonose / outros?); efeito longo-prazo em populações desconhecidas	Esfregaço lesão (AD); lesão (Ch); Lesão, linfonodo, órgãos (FS)	Citologia; cultura bact/PCR; Histo
Brucelose (Br abortus e melitensis)	M	Búfalo (higroma e aborto); antilope; Zoonose	fluido articular (Ch); Soro (Ch); Feto - placenta, pulmão (Ch & FS), fluido abomasal (Ch)	Cultura; PCR; Histo
Septicemia de Clostridium / celulite / miosite	M	Mortalidade elefante e búfalo; águas contaminadas; doenças do gado (não via fauna selvagem)	esfregaço tecido (AD); zaragatoa (Ch)	PCR; FAT; cultura bact
Botulismo	L	Múltiplas; Raiva / DD paralisia	Soro; conteúdo estomago/ intestinal (Ch/Fr)	PCR; biological
Clostridiose perfringens - enterotoxemia	L	Rinoceronte, (elefante e outros?), em condições intensivas e mudanças subitas de dieta	conteúdo intestino delgado (Ch/Fr); esfregaço intestinal (AD)	PCR; biological; Citologia
Dermatofilose (doença Senkobo)	L	Ocasional em fauna selvagem (semelhante a sarna); doença gado	raspagem pele (AD); lesões pele (Ch); lesões pele (FS)	Citologia; cultura bact; Histo
Pleuro-Pneumonia Contagiosa Bovina (CBPP)	Nil	desconhecida em fauna selvagem; gado	preparação de diagnóstico	
Influenza aviária H1, H5 e H7 (HPAI)	H	aves aquáticas; avestruz (apenas domesticas?); doença de aviário	zaragatoa cloacal/traqueal, pulmão/baço/rim (Ch); órgãos (FS)	PCR; virus isol.; Histo
Febre aftosa (FMD)	H	Antílopes - claudicação: Búfalo; impacto econômico no gado	coração (FS); lesão e tonsilas (Ch → VM);	Histo; virus isolation & PCR
Raiva	H	Todos, principalmente carnívoros sociais; zoonose; gado	cérebro e/ou medula (GS & FS + Ch)	IFAT; PCR; Histo (outras encefalites)
Esgana (CDV)	M	leões, mabecos (outros carnívoros) - cães	sangue (Ch); cérebro e pulmão (Ch); órgãos incl. cérebro (FS); teste rápido - secreções	PCR; Histo; teste rápido antigénio
Febre catarral maligna (MCF)	M	Búfalo e antílopes (raro); gado	sangue e baço (Ch); órgãos (FS)	PCR; Histo
Newcastle (NDV)	M	aves selvagens; aviário	zaragatoa de Choanas (Ch); pulmão, baço, rim, cérebro (Ch); pulmão, baço, cérebro (FS)	PCR; virus isol.; Histo
Papilomatose & sarcoide	M	Girafa (neoplasia) zebra, leão e leopardo	lesões (FS & Ch)	Histo; PCR
Febre do vale do rift (RVF)	M	Búfalo (aborto) e antílopes; zoonose; gado	órgãos (FS); tecidos (Ch); sangue (Ch)	Histo; virus isolation & PCR
Encefalite-miocardite virus	L	elefante (esp. ♂, associado com roedores)	órgãos esp. coração (FS); sangue e coração (Ch)	Histo; PCR
Endoteliotrófico-herpesvirus (EEHV)	L	Elefante; fatal em asiáticos em zoo	língua/lesão (FS); sangue (Ch)	Histo; PCR
Peste dos pequenos ruminantes (PPR)	L	fauna como reservatório; gado	sangue, linfonodo, baço, pulmão (Ch) órgãos (FS)	PCR; virus isol.; Histo
Middelburg virus	L	rinoceronte; raiva/ DD paralisia	cérebro/medula (FS & Ch)	Histo; PCR
Shuni virus	L	rinoceronte	cérebro/medula (FS & Ch)	Histo; PCR
Virus Nilo Ocidental	L	Crocódilo (+ rinoceronte ?); zoonose	cérebro/medula (FS & Ch)	Histo; PCR
Teileriose	H	Búfalo e antílopes, gado	sangue, baço, linfonodos (AD); baço (Ch); órgãos (FS)	Citologia; PCR; Histo
Babesiose	L	Elefante, girafa, antílopes, pequenos carnívoros, gado	esfregaço sangue (AD); baço e sangue (Ch/Fr); órgãos (FS)	Citologia; PCR; Histo

Doença	Impacto (elevado - H, médio - M, baixo - L)	Espécies e explicação	Amostras críticas e conservantes	Testes laboratoriais
Tripanosomíase	M	rinoceronte branco, zoonose, gado	Esfregaço sangue (AD); sangue (Ch); cérebro + órgãos (FS); fluido cefalo-raquidiano (Ch)	Citologia; PCR; Histo
Síndrome ulcerativo epizootico dos peixes (EUS)	M	peixes	lesões (Ch); Lesões (FS)	Culture; PCR; Histo
Envenenamento - pesticida (carbamato e organo-fosforados) - caso forense	H	Elefante, rinoceronte, carnívoros que ameacem o gado, necrofagos, esp. abutres	fluido estomago, fígado, sangue (Ch/Fr); isco (ch)	HPLC & MS (lab de química); Cholinesterase
Envenenamento - Cianeto (caso forense)	H	elefante, rinoceronte, espécies necrofagas não-alvo (abutres)	fluido estomago (Ch/Fr); Musculo (Fr)	Na picrate teste de campo (qualitativo); MS (quantitativo)
Envenenamento - cianotóxina	M	elefante e outros	conteudo estomago (Ch/Fr); fígado, cérebro (Fr); água e sedimento	HPLC & MS (laboratório de química); testes tiras (Microcistinae & Anatoxina a)
Envenenamento - plantas	L	herbívoros (Dichapetalum, plantas cianogénicas - ex. Acacia)	conteudo estomago - folhas intetas e frutas (AD), fluido estomago (Ch/Fr)	identificação da planta; teste biológico; teste de campo para cianeto
Parasitas - Externos (sarna, carraças, etc.)	M	todas as espécies, esp. jovens, seniores & com deficiências nutricionais	PM macroscópico, raspagem de pele (sarna), skin (FS), parasitas (Alc)	identificação do parasita; Histo
Parasitas - Internos (Helmintes, larvas Oestridae, Pentastomas)	M	todos as espécies, esp. desmame, seniores ou com deficiências nutricionais	PM macroscópico; parasitas (Alc); órgãos (FS); Fezes (Ch/2%FS)	identificação do parasita; Histo; contagem de ovos nas fezes
Pobreza	M	todas as espécies (girafa e kudu - relacionado com taninos?) ; idade; densidade da espécie; qualidade/quantidade de forragem e relacionado com alterações climáticas; competição pelos recursos; conflito humanos e com gado; presos na lama	PM macroscópico, incl. Dentes e estomago / conteúdo rumen; carga parasitaria secundaria; amostras: órgãos (FS); Parasitas (Alc); fluido estomago (Ch/Fr)	Histo; análise da taninos
Trauma não natural (caso forense)	M	todas as espécies: incluindo acidentes rodoviários ou caça furtiva	PM macroscópico; <b>Amostras:</b> balas e munições	laboratório de balística
Trauma natural	L	Todas as espécies - principalmente Ad e SAd <sup>♂</sup> , agressões hierárquicas	PM macroscópico; <b>Nota:</b> # em falta de mandíbulas (rinoceronte)	

**Conservantes:**

**FS** = 10% formalina em 0.9% solução salina

**Ch** = refrigerar (2 - 6°C)

**Fr** = congelar (≤ 10°C)

**AD** = secar ao ar e enrolar em tecido/papel higiénico

**Alc** = 70% etanol (com 5% glicerol )

**GS** = 50% esteril, tamponado com solução salina

**VM** = Lab-prepared virus medium (tamponado com antimicrobianos )



Apêndice 8.

REGISTO POST MORTEM

REF N° \_\_\_\_\_

ESPECIE \_\_\_\_\_ GPS/ÁREA \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_\_

IDADE \_\_\_\_\_ SEXO \_\_\_\_\_ LACTAÇÃO \_\_\_\_\_ HORA DA MORTE / ESTADIO DECOMPOSIÇÃO \_\_\_\_\_

**DETALHES DE FUNDO**

HISTÓRIA QUE LEVOU À MORTE

POSICIONAMENTO / PERTURBAÇÕES, LOCAL

**OBSERVAÇÕES EXTERNAS:** Feridas – perda de pelo -timpanismo – sangue nos orifícios – conjuntiva – anemia – icterícia – cianose – diarreia

**ECTOPARASITAS** tipo e local (amostragem feita)

CONDIÇÃO CORPORAL (1 a 5 - 1 = emaciado, 5 = obeso) \_\_\_\_\_ **ESFREGAÇO SANGUE S/N** \_\_\_\_\_

**DETALHES SUBCUTÂNEOS:** quantidade de gordura – equimoses – congestão – outras descolorações

**LINFONODOS** – localização - tamanho (amostra)

**CAVIDADE ABDOMINAL E ÓRGÃOS (PTO trato gastrointestinal)**

**CAVIDADE** – fluido – pus – aderências

**BAÇO** - normal - tamanho - hemorragia

**FIGADO** - normal – tamanho – local de descoloração – parasitas **VESICULA BILIAR** – conteúdo, coloração, sedimento/pedras

**RIM** - normal – deposito de gordura - macio– descoloração **URETERES** - tamanho

**ADRENAL** - normal - tamanho

**BEXIGA** - normal – urina escura (café) – vermelha - opacidade

**gónadas:** ♀ - Gonadas / útero (ativo, gestante / desenvolvimento do feto) ♂ **Pênis, Testículos, órgãos adicionais** (tamanho-consistência)



## **CAVIDADE TORÁCICA E ÓRGÃOS**

**CAVIDADE** - fluido - pus - aderências; **MEDIASTINO & AORTA** – gordura-descoloração **TIMO** - tamanho-ativo

---

**PULMÃO** – colapsado ou não – pesado/ com fluido ou sangue – áreas de consolidação – espuma da traqueia **LINFONODOS BRONQUICOS** - inflamação

---

**PERICARDIO** - Fluido - pus **CORAÇÃO** – gordura – hemorragia – descoloração – válvulas cardíacas – artérias

---

**TRATO GASTROINTESTINAL.** Conteúdo – quantidade – húmido – seco – úlceras – parasitas – descoloração da mucosa **ESOFAGO & ESTOMAGO** ou **RUMEN** (rúmen, retículo, omaso, abomaso)

---

**INTESTINO DELGADO** – conteúdo – sangue – muco – úlceras **MESENTERIO & LINFONODOS** – gordura - tamanho

---

**INTESTINO GROSSO** -(ceco, colon, reto) – conteúdo -

---

**PARASITAS INTERNOS – LOCALIZAÇÃO E ABUNDÂNCIA**

---

### **CABEÇA**

**CAVIDADE ORAL / LÍNGUA / DENTES** - erupção e desgaste

---

**CÉREBRO** – abscesso – parasitas – congestão – fluido

---

**CAVIDADE NASAL** – parasitas - inflamação

---

**LINFONOS E GLÂNDULAS SALIVARES** – tamanho - abscesso

---

### **ESQUELETO – MÚSCULOS E OSSOS**

**GRANDES MÚSCULOS** – equimose/congestão – cicatrização – calcificação – formação de gás

---

**OSSOS** – deformações – fraturas – fraturas antigas – artrite – medula

---

## **SUMÁRIO E DIAGNÓSTICO PRELIMINAR (DDs) NOTAS ADICIONAIS**

---

### **ESPECIMEN**

**ASSINATURA:** \_\_\_\_\_ **NOME:** \_\_\_\_\_