

OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL

15 VIDA
TERRESTRE



Foto: Luiz Carlos Bordin

COMUNICADO
TÉCNICO

603

Concórdia, SC
Dezembro, 2022

Embrapa

Protocolo de colheita de amostras biológicas para pesquisa exploratória de patógenos em javalis

Uma oportunidade em Saúde Única

Virgínia Santiago Silva
Beatris Kramer
Iara Maria Trevisol

Protocolo de colheita de amostras biológicas para pesquisa exploratória de patógenos em javalis

Uma oportunidade em Saúde Única¹

¹ Virginia Santiago Silva, Médica Veterinária, doutora em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC. Beatris Kramer, Bióloga, especialização em Desenvolvimento Sustentável e em Gestão da Segurança de Alimentos, analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC. Iara Maria Trevisol, Médica veterinária, mestre em Ciências Veterinárias pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC.

Contextualização

O javali no contexto da Saúde Única

O javali (*Sus scrofa*), espécie exótica invasora (EEI) no Brasil, está listado entre as 100 “piores” espécies invasoras do mundo (Invasive Species Specialist Group, 2022), causando inúmeras ameaças ecológicas e socioeconômicas dentro de sua área de distribuição, de acordo com a União Internacional de Conservação da Natureza (IUCN, 2022).

A introdução do javali-europeu (*Sus scrofa scrofa*) no Brasil ocorreu a partir dos anos 60 e mais expressivamente na década de 1990, com objetivo de produção da carne exótica para consumo, além de introduções pontuais clandestinas. Porém a exploração comercial da carne exótica não se desenvolveu, resultando em liberações acidentais e/

ou intencionais da espécie na natureza, onde retornaram ao estado asselvajado.

Os javalis (*Sus scrofa*) estão entre os mamíferos invasores mais prolíficos da Terra. Por sua natureza generalista e a plasticidade da dieta, utilizam e competem por uma grande variedade de recursos, causando grandes danos às culturas agrícolas, ecossistemas nativos e pecuária, além de atuar como reservatórios e dispersores de patógenos de impacto em saúde pública e animal (Aschim et al, 2019).

Por sua alta adaptabilidade e abundância de recursos disponíveis, somada à ausência de predadores naturais, atualmente a forma selvagem do javali e seus cruzamentos com suíno doméstico em vida livre, referido também como suíno asselvajado, está presente no Brasil em quase todos os biomas, exceto a Amazônia, com registros em pelo menos 1.152 municípios do Brasil (Hegel et al. 2022), com velocidade de invasão estimada de 149,6 km²/ano (Salvador,

2012). Em razão do aumento de sua distribuição no território nacional e pela crescente ameaça ao ecossistema, o javali foi declarado como espécie nociva. Assim, o abate para controle em todo o território nacional foi normatizado pela Instrução Normativa Ibama N° 03/2013 (Crowl et al, 2008).

A abrangência e transversalidade dos impactos causados pela invasão da espécie e seus reflexos nos serviços ecossistêmicos fazem dessas populações de *Sus scrofa* em condição selvagem objeto de particular interesse para a pesquisa com a abordagem em Saúde Única, definida como a integração indissociável entre saúde humana, animal e ambiental (ecossistemas), reconhecendo que estes estão intimamente ligados e interdependentes (Crowl et al 2008; World Health Organization, 2022). Sabe-se que os javalis podem atuar como reservatórios para uma série de bactérias, vírus e parasitas, que são transmissíveis para humanos e animais domésticos e silvestres pelo contato direto com os javalis, por ingestão de carnes e subprodutos de carne de javalis contaminados ou indiretamente por meio do ambiente contaminado (Fredriksson-Ahomaa, 2019; Piovesan; Temporini, 1995; Meng et al., 2009). O papel do javali na disseminação de doenças abrange múltiplas escalas de fatores bióticos e abióticos, sendo necessário o monitoramento sanitário para caracterizar a condição sanitária e suas implicações, uma vez que essas populações asselvajadas não estão contidas em limites geográficos. A caracterização do perfil sanitário dos javalis com

foco em Saúde Única abrange tanto o diagnóstico de doenças/patógenos de interesse em saúde humana, animal e ambiental quanto os fatores eco-epidemiológicos associados ao hospedeiro, ao(s) patógeno(s) e ao ambiente onde se encontram, considerando as variadas formas de interação entre os três pilares. Neste contexto, a normatização do controle populacional da espécie (Ibama, 2013) propicia acesso à colheita de material biológico por métodos invasivos post mortem para investigação sanitária, que pode abranger distintos propósitos e abordagens.

Reconhecendo a ameaça que o javali representa para a pecuária nacional, sobretudo para a suinocultura, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento incluiu as populações de suínos asselvajados no Plano Integrado de Vigilância de Doenças de Suínos (Brasil, 2021), que contempla principalmente doenças de impacto econômico para a suinocultura. Entretanto, a oportunidade ímpar de investigação sanitária que essas populações invasivas, abundantes, dispersas e socialmente conflitantes oferece vai muito além das doenças de impacto à pecuária e excede a condição de resposta da atuação veterinária isoladamente. Diversos públicos são afetados pela invasão dos javalis e estão envolvidos no controle da espécie, podendo contribuir no avanço do conhecimento da condição sanitária dessas populações e suas consequências à sociedade se voluntariamente se dispuserem e tiverem acesso à orientação técnica pertinente.

O papel de colaboradores de diferentes setores da sociedade no monitoramento sanitário de populações selvagens é claramente destacado e reconhecido pela Organização Mundial de Saúde Animal, no Código Sanitário de Animais Terrestres e nos Manuais de Treinamento em Doenças e Vigilância de Fauna Silvestre como importantes aliados do serviço veterinário. O perfil de colaboradores é definido como: “Toda e qualquer pessoa que observa ou passa algum tempo no habitat com animais selvagens”, incluindo pesquisadores biólogos, ecólogos, acadêmicos universitários, analistas e gestores ambientais com responsabilidades em manejo de fauna silvestre, naturalistas, bem como agentes de manejo do javali, dentre outros. Contudo, é necessário fornecer instruções, orientações e, sempre que possível, treinamento aos colaboradores não veterinários, para que eles possam comunicar a detecção de doenças ou morte de animais aos órgãos responsáveis, bem como apoiar na colheita de dados e amostras para diagnóstico de forma segura e eficiente (World Organisation for Animal Health, 2015).

As condições de campo em que se pode ter acesso a javalis abatidos geralmente são desafiadoras, sobretudo para pessoas que não são da área técnica afim. Portanto, os princípios de segurança, simplicidade e praticidade dos procedimentos de colheita de amostras foram prioridade na proposição de protocolos. Da mesma forma, os objetivos e/ou propósitos das coletas de dados e amostras de javalis também devem estar claros

no estabelecimento dos procedimentos pertinentes em campo.

Este documento tem como objetivo apresentar um protocolo de colheita *post mortem* de tecidos/órgãos de javalis, dirigido a públicos diversos. Estão incluídos aspectos fundamentais de biossegurança e boas práticas no acesso e colheita de amostras biológicas de fauna selvagem, oferecendo subsídios técnicos para engajamento e colaboração de diferentes grupos sociais em apoio ao monitoramento sanitário dessa espécie exótica invasora, priorizando a abordagem em Saúde Única.

Metodologia

A metodologia de pesquisa exploratória é particularmente adequada para situações em que não há ou há pouco conhecimento preexistente sobre o tema estudado. É a investigação preliminar cujo objetivo principal é familiarizar-se com o tópico investigado, fornecendo informações básicas que possibilitem definir os temas e prioridades de pesquisas subsequentes com metodologias apropriadas e mais precisão (Hunter et al., 2019; Piovesan; Temporini, 1995).

Por esta razão, considerando a escassez de informação sobre a condição sanitária dos javalis nas diversas regiões do Brasil e as dificuldades inerentes ao acesso a populações de vida livre, foram priorizadas as orientações de colheita de alguns tecidos e órgãos considerados mais relevantes para investigação e detecção de uma maior variedade de

patógenos. Considerando a abordagem exploratória com foco em Saúde Única, as orientações de colheita de amostras biológicas previstas neste documento restringem-se a javalis abatidos para controle populacional, aparentemente saudáveis, não sendo destinada a javalis com sinais clínicos ou suspeita de doença.

A abordagem de doenças e patógenos específicos não são escopo deste documento, cabendo aos interessados consultar a grande variedade de fontes e bases de informação científica pertinente. Aos médicos veterinários interessados em fazer necropsia em javalis com colheitas específicas, recomenda-se o Manual de necropsia para suídeos (Rech et al., 2014).

Considerando a diversidade e quantidade de patógenos que afetam os suídeos e que não causam lesões ou sinais clínicos, foi adotado como critério de seleção de tecidos para colheita de órgãos linfoides secundários, além de sangue total e soro sanguíneo. Os órgãos linfoides são estruturas do sistema imunológico compostas majoritariamente por linfócitos e responsáveis pela defesa do organismo contra patógenos e agentes que afetem negativamente a saúde, sendo o local onde haverá maior chance de detecção de patógenos, se o indivíduo for portador (Getty, 1986). O soro sanguíneo é a amostra de eleição para pesquisa dos anticorpos, portanto, é a matriz para pesquisa de anticorpos de uma grande variedade de patógenos que indica se o indivíduo teve contato

ou não com estes. Desta maneira, pode oferecer uma informação preliminar aos procedimentos para detecção do patógeno, seja por meios convencionais de isolamento ou por detecção de material genético dos patógenos investigados.

Biossegurança e boas práticas durante a colheita de amostras biológicas *post mortem* em javalis

Biossegurança é a condição de segurança alcançada por um conjunto de ações destinadas a prevenir, controlar, reduzir ou eliminar riscos inerentes às atividades que possam comprometer a saúde humana, animal e o meio ambiente (Anvisa, 2022)

A manipulação do javali pode trazer riscos de acidentes principalmente físicos e biológicos aos manipuladores, assim a capacitação dos envolvidos, o uso adequado de equipamentos de proteção individual (EPIs) e atenção às normas de biossegurança são indispensáveis para garantir a segurança e saúde de todos.

Os javalis podem ser reservatórios de inúmeros patógenos capazes de causar doenças a outros animais, domésticos e selvagens, e ao ser humano, portanto a adoção de medidas de biossegurança contribui para manter a saúde e segurança da fauna silvestre, dos animais de criação e das pessoas. Os patógenos podem ser transmitidos das mais variadas formas, como através

de contato direto e indireto com animais infectados, ingestão de carne e subprodutos contaminados, veículos, ambiente ou quaisquer objetos contaminados. Os protocolos básicos de biossegurança podem ser suficientes para gerenciar muitos riscos de doenças infecciosas associados às interações com fauna silvestre (Guberti et al., 2019; World Organisation for Animal Health, 2015; Deana et al., 2011). Por esta razão, boas práticas em biossegurança devem ser adotadas, independentemente da percepção de risco, como:

- Evitar ambiente silvestre se apresentar algum problema de saúde.
- Uso adequado dos equipamentos de proteção individual.
- Higienização das mãos.
- Evitar o contato das mãos com olhos, nariz e boca.
- Não comer, beber ou fumar durante a manipulação de materiais biológicos.
- Usar proteção contra picada de insetos e carrapatos (ex., roupas adequadas e repelentes).
- Buscar informações sobre o histórico e situação sanitária atualizada das regiões onde ocorrem as atividades com javalis.
- Manter as vacinas atualizadas.

- Procurar assistência médica em caso de ferimentos (mordidas, arranhões, cortes...) e informar ao serviço de saúde o contato com ambiente silvestre, mais especificamente com javalis.
- Manter em dia os exames médicos periódicos e informar ao profissional de saúde a condição de contato em ambiente silvestre, e especificamente contato direto com javalis.

Os javalis são acometidos por inúmeras doenças que podem ser fatais, porém nem sempre a morte ocorre imediatamente, mas pode levar o animal a ter comportamentos anormais (Deana et al., 2011). Como a condição sanitária desses animais é desconhecida, pode haver risco de zoonoses ou doenças animais de alto impacto econômico (Figura 1). A Peste Suína Africana e Peste Suína Clássica, que não são zoonoses mas são doenças altamente contagiosas que infectam suínos, causam elevados prejuízos econômicos e são doenças de notificação oficial compulsória. Portanto, frente a situações suspeitas, entre em contato com o Serviço Veterinário oficial do seu estado e aguarde orientações.

ATENÇÃO

- ▶ Se encontrar javalis com comportamento anormal.
- ▶ Se encontrar javalis mortos sem causa aparente.

Não toque no javali ou manipule a carcaça e comunique o Serviço Veterinário Oficial

Foto: Luiz Carlos Bordin



Figura 1. Javali encontrado morto.

Colheita *post mortem* de amostras de javalis

As orientações apresentadas neste documento destinam-se à colheita de amostras biológicas para fins de avaliação exploratória de microrganismos de interesse em Saúde Única. Neste sentido, várias matrizes biológicas podem ser usadas, porém considerando a facilidade e simplicidade em acessar determinados tecidos e órgãos, a colheita de amostras como as de sangue, tonsilas, linfonodos, baço e intestino foram priorizadas por permitirem a investigação de uma grande variedade de microrganismos. Desta forma, este protocolo não esgota as possibilidades de colheita, e nem tem esta pretensão. O acesso a amostras para pesquisas direcionadas com diagnósticos específicos não está no escopo deste documento, porém poderá ser desdobramento, o passo seguinte decorrente dos resultados da aplicação dessa alternativa de amostragem mais restrita.

Materiais necessários para a colheita de amostras

- **Equipamentos de proteção individual:** luvas descartáveis, máscara descartável, óculos de segurança e roupas e botas descartáveis - ou que possam ser lavadas e desinfetadas (Figura 2).
- **Materiais para colheita e acondicionamento:** facas, pinças e tesouras (quando possível), sacos plásticos, tubos tipo falcon de 50 mL e 15 mL, caixa isotérmica (isopor) e gelo ou gelo reutilizável (Figura 3).
- **Materiais para identificação:** ficha de colheita de amostras e cassetes (Figura 4).
- **Materiais para limpeza e desinfecção:** lona, galão com água, detergente, desinfetante (água sanitária), escova, esponja, sacos de lixo e papel toalha (Figura 5).



Figura 2. EPIs.



Figura 3. Instrumentos para colheita de amostras.

Ficha colheita de amostras de suínos assevajados			
Nome do Responsável pela colheita:			
Telefone:	E-mail:		
Município:			
Localidade/ Propriedade:			
Data:			
Georreferenciamento:			
Preencher os dados abaixo para cada animal que for colhida amostra (s)			
Javali nº			
Peso:	Sexo: Macho ()	Fêmea ()	
Amostras biológicas colhidas:			
Sangue ()	Tonsilas ()	Linfonodos ()	Baço ()
Fígado (-)	Outros:		
Observações:			

Figura 4. Ficha de identificação das amostras.



Figura 5. Material para higienização.

Orientações e procedimentos para colheita das amostras biológicas *post mortem* de javalis

A condição ideal para a colheita de amostras *post mortem* é iniciar imediatamente após o abate. Porém antes de iniciar a colheita das amostras biológicas faça o exame externo da carcaça, imediatamente após a avaliação prossiga com a colheita de sangue, pois a coagulação ocorre rapidamente, podendo impossibilitar a colheita e/ou obtenção de amostras com qualidade para os exames diagnósticos. Após a colheita de sangue pode-se colher as tonsilas, os linfonodos cefálicos, fragmento do baço, fragmentos dos linfonodos mesentéricos

e fragmento do intestino delgado. Caso não consiga colher todas as amostras mencionadas, colha o que for possível, priorizando o sangue e as tonsilas.

Avaliação externa da carcaça

Faça uma avaliação externa da carcaça do javali. Verifique se há presença de ectoparasitos, como carrapatos (Figuras 6 e 7) e piolhos. Colha os carrapatos e acondicione-os em recipiente limpo. Também podem ser colhidas amostras de carrapatos em frascos vedados, contendo álcool 70° (preferencialmente) ou 96°, e enviadas ao laboratório, ou conforme as orientações do médico veterinário.



Foto: Virginia Santiago Silva

Figura 6. Carcaça com presença de carrapatos.

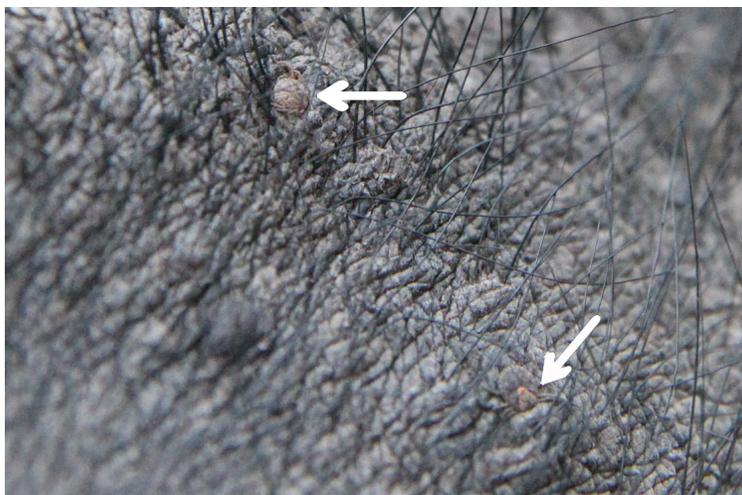


Foto: Virginia Santiago Silva

Figura 7. Pele com presença de carrapatos.

Em seguida, examine externamente se há presença de lesões vesiculares no focinho, borda dos cascos e entre os dígitos das patas traseiras e dianteiras (Figuras 8 e 9).

ATENÇÃO

► Se detectar lesões vesiculares, não manipule a carcaça, avise o Serviço veterinário imediatamente e aguarde

Foto: Iara Maria Trevisol

**Figura 8.** Coxim plantar.

Foto: Iara Maria Trevisol

Figura 9. Avaliação das patas.

Para a colheita das amostras coloque a carcaça do javali no local escolhido, posicione-a de modo a facilitar a colheita, considerando o tamanho da carcaça e o local de apoio. As posições mais

comuns para a retirada das amostras são: posição em decúbito dorsal (barriga para cima) ou decúbito lateral (de lado) e a carcaça suspensa (Figuras 10 e 11).

Foto: Luiz Carlos Bordin

**Figura 10.** Carcaça em decúbito lateral.

Foto: Luiz Carlos Bordin

Figura 11. Carcaça suspensa.

Colheita de sangue

Com o javali (carcaça) em decúbito ou suspenso faça um corte na região do pescoço de modo a cortar os vasos do pescoço, ou colha o sangue do corte para a abertura da carcaça. Posicione o frasco de 50 mL dentro do ferimento e preencha aproximadamente $\frac{3}{4}$ do frasco com sangue (Figura 12). Evite colher o sangue que escorre sobre a pele/

pelos devido à grande possibilidade de contaminação. Tampe o frasco e deixe inclinado em repouso por cerca de uma hora para formação do coágulo (Figura 13), enquanto procede a colheitas das demais amostras. Após a formação do coágulo (Figura 14) transfira o soro (parte líquida) para o tubo de 15 mL (Figura 15) e acondicione na caixa com gelo. Se houver disponibilidade de centrifuga, as amostras poderão ser centrifugadas.



Figura 12. Colheita de sangue da incisão para abertura da carcaça.



Figura 13. Sangue em repouso para formação do coágulo.



Figura 14. Coágulo e soro.



Figura 15. Soro.

Fotos: Beatris Kramer

ATENÇÃO

- ▶ O sangue total não pode ser congelado.
- ▶ Somente após o procedimento de dessera o soro obtido poderá ser congelado.
 - ▶ Todas as amostras de tecido, órgãos e soro podem ser congeladas.

Para a colheita dos órgãos, a carcaça pode estar em decúbito dorsal ou lateral (Figura 10), quando a remoção das vísceras em monobloco pode ser feita no sentido dos órgãos torácicos para os abdominais até o reto. A carcaça também pode ser suspensa pelas patas, preferencialmente com a cabeça para baixo (Figura 11), o que facilita a remoção das vísceras em monobloco.

Com a carcaça de cabeça para baixo, a remoção das vísceras em monobloco é feita de cima para baixo, ou seja, no sentido do reto para a cabeça, conforme sequência das Figuras 16 até 23. Na Figura 24 pode-se observar a cabeça e pele removidas e na Figura 25 os órgãos das cavidades torácica e abdominal em monobloco e colocados em local apropriado para a colheita das amostras.



Figura 16. Remoção parcial da pele da carcaça.



Figura 17. Remoção completa da pele.



Figura 18. Remoção da cabeça.



Figura 19. Abertura da cavidade abdominal.

Fotos: Luiz Carlos Bordin



Figura 20. Retirada das vísceras.



Figura 21. Vísceras em monobloco.



Figura 22. Acondicionamento das vísceras.



Figura 23. Carcaça eviscerada.

Fotos: Luiz Carlos Bordin

Foto: Iara Maria Trevisol



Figura 24. Cabeça com pele.

Linfonodos

Os linfonodos são pequenas estruturas nodulares de tecido formado basicamente por células do sistema imunológico. Estão localizados ao longo do trajeto dos vasos linfáticos e constituem os sítios onde se inicia a resposta imune adquirida aos antígenos transportados pela linfa. Assim, são importantes órgãos para pesquisa de inúmeros patógenos, desempenhando papel fundamental nos exames diagnósticos para compor o perfil sanitário dos javalis.

Linfonodos cefálicos

Estão localizados bilateralmente na região da cabeça do javali. Para iniciar a colheita dos linfonodos, remova a pele das laterais da cabeça (Figura 26) e exponha o músculo masseter (figura 27). Examine atentamente a região da pele, pois às vezes alguns linfonodos cefálicos ficam aderidos na pele rebatida lateralmente (Figuras 28 e 29). Estes também podem ser colhidos.

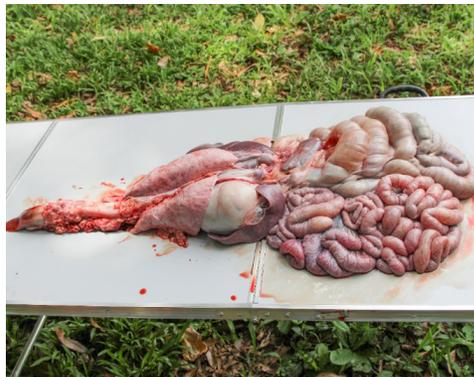


Foto: Virgínia Santiago Silva

Figura 25. Monobloco de vísceras torácicas e abdominais.

Vários linfonodos cefálicos podem ser colhidos, porém alguns são mais acessíveis, como os linfonodos mandibulares, que estão localizados lateralmente à faringe próxima à mandíbula e à glândula mandibular, logo abaixo do músculo masseter (músculo da bochecha). Para colher os linfonodos, faça um corte entre a mandíbula e o masseter (Figura 30). Os linfonodos mandibulares estão próximos à glândula mandibular (Figuras 31 e 32), por isso é importante ter o cuidado de diferenciar os linfonodos das glândulas.

Os linfonodos parotídeos e retrofaríngeos também podem ser amostrados, porém o acesso é mais trabalhoso. Os linfonodos parotídeos situam-se um pouco abaixo da articulação mandibular, próximos às orelhas. Para proceder a colheita, faça um corte vertical logo abaixo das orelhas. Os linfonodos retrofaríngeos (laterais e mediais) estão localizados posteriormente aos linfonodos parotídeos (sentido caudodorsal ao teto da faringe). Para a colheita, faça um corte

horizontal abaixo das orelhas, a partir do corte feito para a colheita dos linfonodos retrofaríngeos. Os linfonodos cefálicos devem ser colhidos de ambas as laterais da cabeça, colocados em sacos identificados com os nomes das amostras e acondicionados na caixa com gelo.

Os linfonodos podem ser usados em várias técnicas de diagnóstico, sendo os linfonodos retrofaríngeos e mandibulares os de eleição para pesquisa de micobactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis*.



Foto: Iara Maria Trevisol

Figura 26. Remoção da pele das laterais da cabeça.

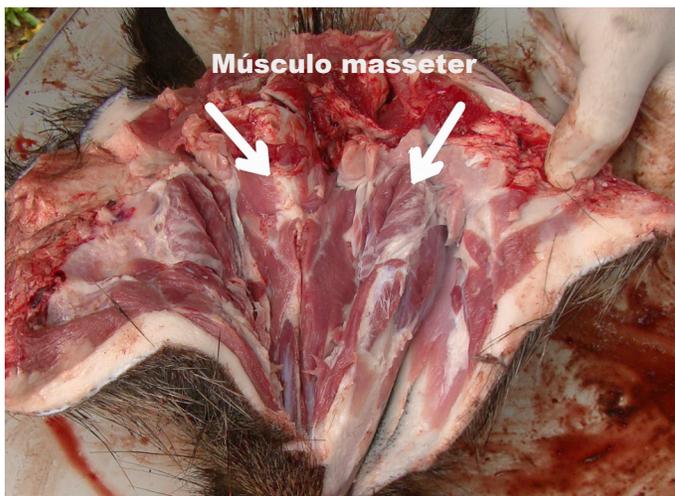


Foto: Iara Maria Trevisol

Figura 27. Músculo masseter.

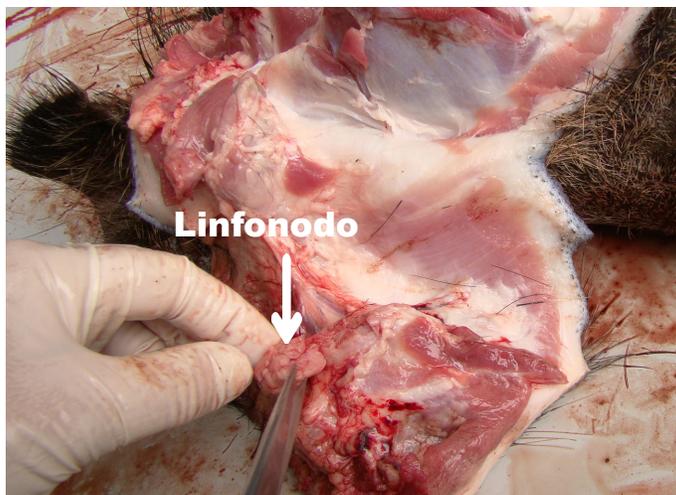


Foto: Iara Maria Trevisol

Figura 28. Linfonodo aderido a pele.

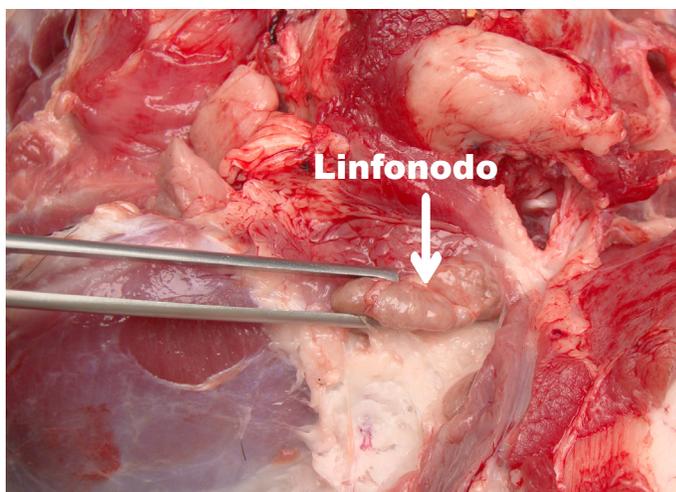


Foto: Virginia Santiago Silva

Figura 29. Detalhe linfonodo.

Foto: Beatris Kramer

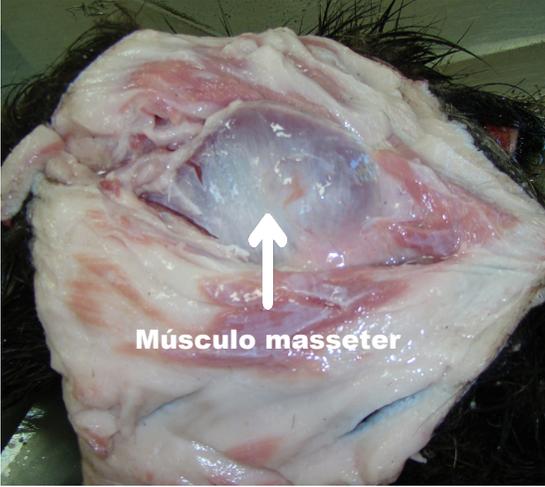


Figura 30. Corte lateral ao músculo masseter.

Figura 31. Localização do linfonodo mandibular.

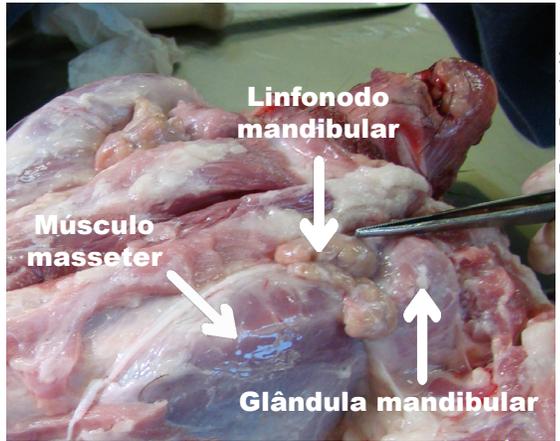


Foto: Beatris Kramer

Foto: Beatris Kramer

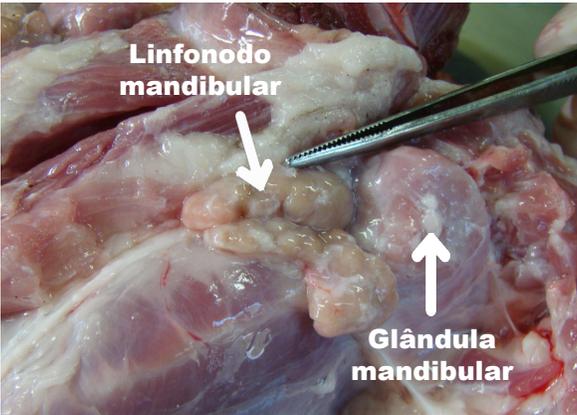


Figura 32. Linfonodo mandibular e glândula mandibular.

Tonsilas

As tonsilas do palato mole (parte posterior do céu da boca) são estruturas bilaterais ovaladas e achatadas, que apresentam múltiplas reentrâncias. Participam de uma variedade de funções imunológicas, atuando como porta de entrada na detecção de antígenos estranhos. Apesar da natureza imunológica das tonsilas palatinas (ou amígdalas), alguns microrganismos adquiriram adaptações e conseguem contornar as defesas imunes, utilizando como local de entrada, replicação e colonização. Vários patógenos bacterianos e virais persistem de forma assintomática nas tonsilas (Horter et al., 2003), por isso é um dos mais importantes órgãos para pesquisa exploratória de patógenos em javalis, possibilitando investigar o potencial da espécie como reservatório para vários microrganismos.

Para acessar as tonsilas, coloque a cabeça do javali sobre uma superfície rígida, desarticule a mandíbula e retire a língua (Figura 33), ou rebata a pele da parte inferior do pescoço, posicione a faca rente à parte interna dos ramos da mandíbula e corte (em forma de V invertido) para visualizar as tonsilas. Com a faca, corte por baixo das tonsilas e retire-as, observando que elas podem ficar aderidas ao monobloco de vísceras torácicas, ou ainda divididas (Figura 34). Neste caso, retire as duas partes, coloque no saco de coleta devidamente identificado e acondicione na caixa com gelo.

As tonsilas podem ser empregadas em várias técnicas de diagnóstico, sendo os órgãos de eleição para a pesquisa dos vírus da peste suína clássica, da peste suína africana, da doença de Aujeszky e para as bactérias como *Pasteurella sp*, *Streptococcus suis* e *Actinobacillus sp*, bem como para vários outros patógenos.

Foto: lara Maria Trevisol

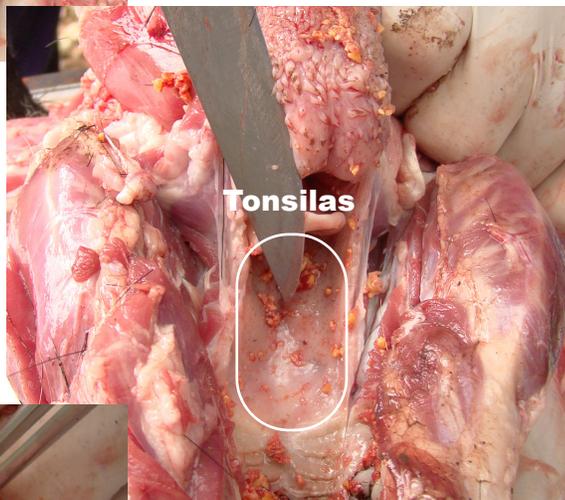
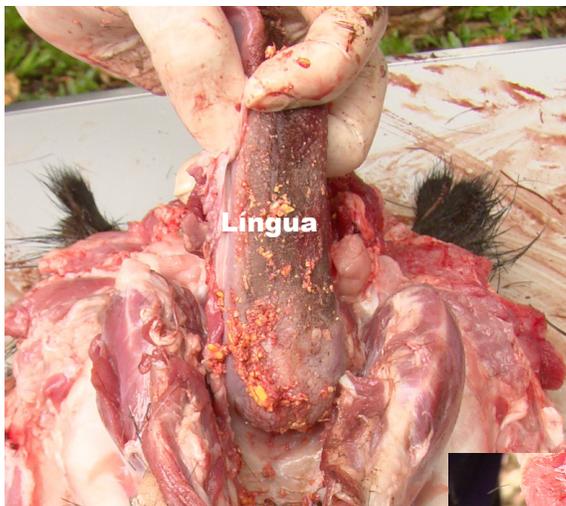
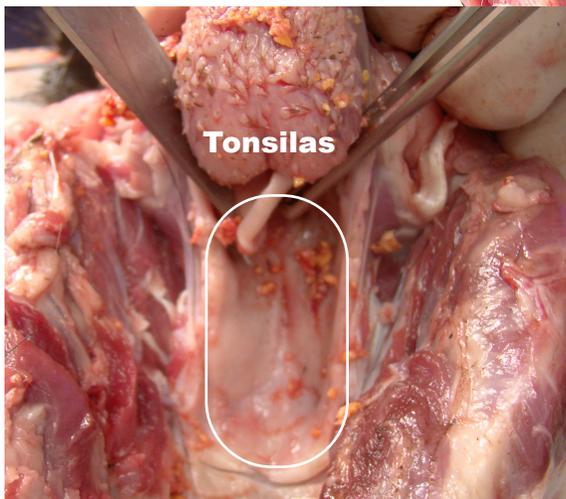


Foto: lara Maria Trevisol

Foto: lara Maria Trevisol



Figuras 33. Remoção da língua para exposição e acesso às tonsilas palatinas.

Foto: Iara Maria Trevisol

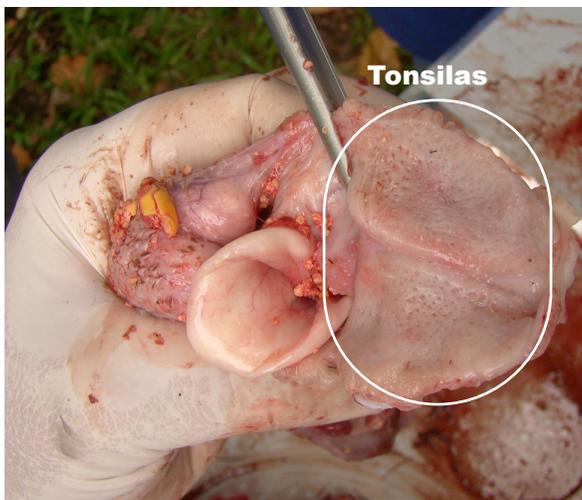


Foto: Virginia Santiago Silva

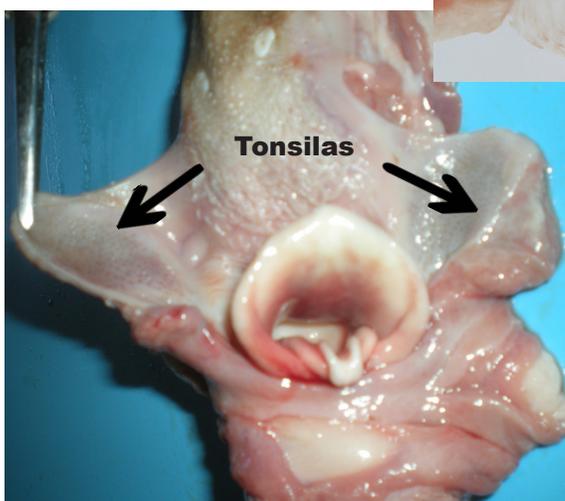


Foto: Virginia Santiago Silva

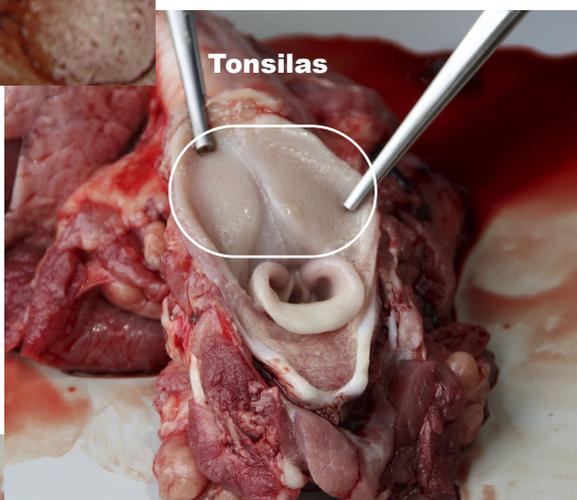


Figura 34. Exposição das tonsilas indicando localização para secção do órgão.

Baço

O baço é alongado e localiza-se dorsoventralmente no lado esquerdo da cavidade abdominal. O baço é um órgão linfoide secundário semelhante aos linfonodos, com a diferença de que os antígenos entram no baço pelo sangue e nos linfonodos pela linfa. É o principal local das respostas imunes aos antígenos transportados pelo sangue, sendo o sítio de ativação da resposta imunitária humoral e da resposta mediada por células a infecções sistêmicas. Desta forma, constitui-se um importante órgão para a realização de pesquisa exploratória de patógenos em javalis.

O baço está localizado lateralmente, junto ao estômago, posteriormente a este (Figura 35). Colha um fragmento de aproximadamente 5 cm, como demonstrado nas Figuras 36 e 37. Coloque no saco de coleta e armazene na caixa com gelo.

O baço é o órgão de eleição para a pesquisa de peste suína clássica e peste suína africana, mas como os demais órgãos, também pode ser usado para inúmeros testes diagnósticos para outras enfermidades.

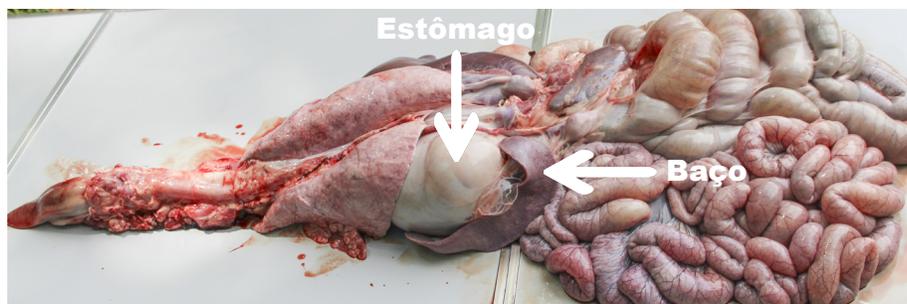


Foto: Virginia Santiago Silva

Figura 35. Monobloco de vísceras torácicas e abdominais.

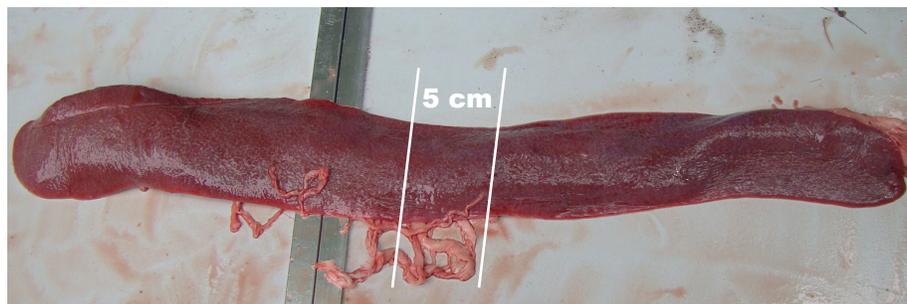


Foto: Lara Maria Trevisol

Figura 36. Baço.

Foto: Luiza Biezus



Figura 37. Colheita de fragmento de baço.

Foto: Virgínia Santiago Silva



Figura 38. Localização dos linfonodos mesentéricos.

Foto: Virgínia Santiago Silva



Figura 40. Corte dos linfonodos mesentéricos.

Linfonodos mesentéricos

Os linfonodos mesentéricos estão localizados no mesentério, junto ao intestino delgado (Figura 38 e 39). Como os linfonodos estão junto ao intestino, proceda a colheita com muito cuidado, evitando perfurações do intestino e contaminação das amostras (Figura 40). Acesse os linfonodos e cuidadosamente retire três a quatro fragmentos de aproximadamente 1 cm x 1 cm (Figura 41). Coloque os fragmentos no saco de coleta e armazene na caixa com gelo.



Figura 39. Linfonodos mesentéricos.

Foto: Virgínia Santiago Silva



Figura 41. Colheita e acondicionamento dos linfonodos mesentéricos.

Foto: Luiza Biezus

Intestino delgado

O intestino é rico em tecido linfóide associado (GALT), que em conjunto com microbiota gastrointestinal possui função protetora, atuando na estimulação do sistema imune, além de ser considerado a primeira linha de defesa do animal contra os diversos microrganismos. Assim, o intestino é uma importante matriz para diversos exames diagnósticos, contribuindo para uma mais completa pesquisa exploratória de patógenos em javalis.

Para colher fragmento do intestino delgado é necessário selecionar uma porção e fazer uma amarração juntando as duas partes da porção selecionada, de modo a impedir o extravasamento de conteúdo intestinal, como apresentado na sequência das Figuras 42, 43 e 44.



Foto: Luiza Biezius

Figura 42. Seleção de porção do intestino delgado.

Foto: Luiza Biezius



Figura 43. Amarração da porção selecionada.



Foto: Luiza Biezius

Figura 44. Corte e acondicionamento do fragmento selecionado.

Identificação, acondicionamento e conservação das amostras

- Organizar o material necessário para colheita (Figura 45).
- Identificar os sacos plásticos e tubos para a colheita com o mesmo número escrito na ficha de identificação (Figura 46).
- Nos sacos plásticos, escrever o nome do órgão ou tecido a ser colhido; por exemplo: intestino, fígado, baço ou tonsila (Figura 47).
- Preencher a ficha de colheita de amostras com o máximo de informações possível, sempre incluindo data, local coordenadas geográficas (se possível), sexo e peso do animal, órgão/tecido colhido e o responsável pela colheita. Atentar para que o número da ficha corresponda a mesma identificação dos tubos e sacos de colheita.
- Preencher o campo “observações da ficha de colheita de amostras” com informações complementares

como por exemplo: javali com lesões na pele ou patas, parasitas de pele, prenhe com o número de fetos, entre outras. As impressões do ambiente também são relevantes: abate próximo a granjas de criação de suínos.

- A obtenção de amostras de qualidade depende de colheita, identificação, acondicionamento, conservação e transporte adequados.

Ao término da colheita, certifique-se de que todas as amostras estão identificadas. Neste momento, é importante observar se a amostra de sangue foi dessorada e o soro colocado em tubo separado do coágulo sanguíneo. Após verificar as identificações das amostras, acondicione-as em caixa isotérmica. Para a adequada conservação do material deve-se colocar gelo reutilizável no fundo e laterais da caixa. Acomode as amostras no espaço entre os gelos (Figura 48) e cubra com gelo. Tampe a caixa e encaminhe ao laboratório. Quanto menor o tempo entre a colheita e o processamento das amostras no laboratório, mais confiáveis serão os resultados.

Foto: Beatris Kramer



Figura 45. Material de colheita.



Foto: Beatris Kramer

Figura 47 Amostras colhidas e identificadas.

Foto: Beatris Kramer

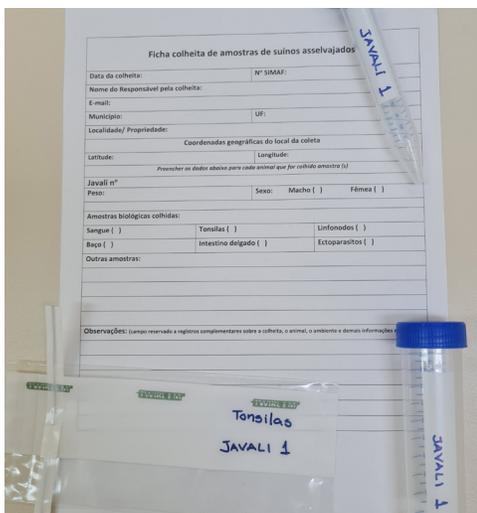


Figura 46. Tubos e ficha de identificação de colheita.



Foto: Beatris Kramer

Figura 48. Acondicionamento de amostras para envio ao laboratório.

Limpeza e organização do local de colheita das amostras

Ao término da colheita das amostras, o destino adequado dos despojos, bem como a limpeza e a desinfecção, são etapas muito importantes do protocolo de colheita de amostras, pois contribuem para a manutenção da saúde do ambiente, de outras espécies animais e do homem.

- Fazer a limpeza de derramamentos de sangue e outros fluidos.
- Todos os resíduos gerados (carcaça, vísceras, couro, ossos, sangue, luvas ou máscaras) devem ser recolhidos em sacos plásticos, ou recipiente adequado (Figuras 49, 50

e 51).

- As ferramentas e utensílios devem ser exclusivos para essa prática, devendo ser lavados e desinfetados ao término das atividades.
- Fazer a lavagem e desinfecção dos veículos usados nas atividades.
- Fazer a lavagem e desinfecção dos equipamentos de proteção individual não descartáveis, como os óculos de proteção.
- Fazer a lavagem das mãos (Figura 52).
- É preferível que o destino dos resíduos seja feito no local da colheita, evitando a movimentação de material biológico de um local para outro.

Foto: Virgínia Santiago Silva



Figura 49. Recolhimento dos despojos em sacos plásticos para destinação segura.

Foto: Virgínia Santiago Silva



Figura 50. Tambor plástico para recolhimento e transporte.



Figura 51. Tambor plástico com tampa para evitar vazamentos de fluidos contaminantes dos despojos do abate.

Destino dos despojos

O correto destino dos despojos é etapa fundamental para manter a integridade dos três pilares que constituem a Saúde Única. Algumas formas seguras de destinação dos despojos decorrentes da colheita de amostras biológicas em javalis podem ser usadas, sempre respeitando as exigências previstas na legislação vigente de cada estado e município (Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, 2021).

- Utilização como matéria prima para indústria de reciclagem animal.
- Destinada a aterros sanitários.
- Enterradas em valas no próprio local do controle ou em local próximo.



Figura 52. Higienização das mãos após a colheita.

- Destinada à compostagem em local cercado e isolado no local onde foi realizada a colheita das amostras biológicas. O composto produzido deverá ser utilizado, obrigatoriamente, no local onde foi gerado.

Considerações e recomendações finais

- O javali continua em expansão populacional e territorial no país, apesar dos esforços para conter a espécie, propiciando cada vez mais o contato e interações diretas e indiretas com outras espécies animais e homem. Diante deste cenário é fundamental perceber a espécie como um potencial risco sanitário,

mesmo que não apresentem sinais clínicos ou lesões sugestivas de doenças.

- O javali representa uma importante oportunidade de investigação em Saúde Única, porém o acesso a essas populações deve ser realizado com responsabilidade e observando critérios de biossegurança, pois a transmissão de patógenos pode ocorrer em ambas as vias, do homem ao meio silvestre e vice-versa.
- A colheita de amostras dos tecidos e órgãos linfoides de javalis possibilita a investigação exploratória de patógenos circulantes em ambiente selvagem e permite estabelecer e enriquecer bancos de amostras e de organismos procedentes dessas populações, que somam tanto na geração de conhecimento quanto no potencial para desenvolvimento de variados ativos.
- A abordagem exploratória da investigação sanitária é uma etapa que precede investigações mais aprofundadas e permite planejar e alocar os recursos necessários às etapas subsequentes com maior eficiência.

O conteúdo deste documento está associado ao ODS 15, “Proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da terra e deter a perda de biodiversidade”, contribuindo para a Meta 15.8 – “Até 2020, implementar medidas para evitar a introdução e reduzir significativamente o impacto de espécies exóticas invasoras em ecossistemas terrestres e aquáticos, e controlar ou erradicar as espécies prioritárias”, pois abrange tanto o controle do javali (*Sus scrofa*) asselvajado enquanto espécie exótica invasora quanto a vigilância e controle de doenças nessas populações, que representam ameaça à saúde humana e animal, à preservação da biodiversidade e ao uso sustentável dos ecossistemas brasileiros.

Referências

ANVISA. **Agência nacional de vigilância sanitária**. Brasília, DF, 2022. Acessível em: http://antigo.anvisa.gov.br/en_US/sangue/conceitos-e-definicoes. Acesso em: 2 dez.2022.

ASCHIM, R. A.; BROOK, R. K. Evaluating cost-effective methods for rapid and repeatable national scale detection and mapping of invasive species spread. **Scientific Reports**, v. 9, article number 7254, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43729-y>

IBAMA. Instrução Normativa nº 3, de 31 de janeiro de 2013. Declara a nocividade da espécie exótica invasora javali-europeu, de nome científico *Sus scrofa*, em todas as suas formas, linhagens, raças e diferentes graus de cruzamento com o porco doméstico. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 1, n. 73, p. 88-89, 1 fev. 2013. Disponível: <http://www.ibama.gov.br/component/slacao/?view=legislacao&legislacao=129393>. Acesso em: 4 dez. 2022.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Plano integrado de vigilância de doenças de suínos**. Brasília, DF, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/saude-suidea/PlanoIntegradodeVigilanciaPNSS.pdf>. Acesso em: 4 dez. 2022.
- CROWL, T. A.; CRIST, T. O.; PARMENTER, R. R.; BELOVSKY, G.; LUGO, A. E. The spread of invasive species and infectious disease as drivers of ecosystem change. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 6, n. 5, p. 238–246, 2008.
- DEANA L. CLIFFORD, D. L.; Wolking, D. J.; MUSE, E. A. **Hali: wildlife health handbook: a guide to recognizing, investigating, and reporting diseases of concern for wildlife conservation and human health: a guide for protected area rangers, scouts, and staff**. Davis, CA: UC Davis Veterinary Medicine, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/216880252_HALI_Wildlife_Health_Handbook_A_Guide_to_Recognizing_Investigating_and_Reporting_Diseases_of_Concern_for_Wildlife_Conservation_and_Human_Health. Acesso em: 9 set. 2022.
- FREDRIKSSON-AHOMAA M. Wild boar: a reservoir of foodborne zoonoses. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 16, n. 3, p. 153-165, Mar. 2019. Doi: 10.1089/fpd.2018.2512.
- GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1986. 2000 p.
- GUBERTI, V.; KHOMENKO, S.; MASIULIS, M.; KERBA S. **African swine fever in wild boar ecology and biosecurity**. Rome: FAO: OIE: EC, 2019. (FAO Animal Production and Health Manual, 22). Disponível em: <https://www.fao.org/3/ca5987en/CA5987EN.pdf>. Acesso em: 17 set. 2022.
- HEGEL, C. G. Z.; FARIA, G. M. M.; RIBEIRO, B.; SALVADOR, C. H.; ROSA, C.; PEDROSA, F.; BATISTA, G.; SALES, L. P.; WALLAU, M.; FORNEL, R.; AGUIAR, L. M. S. Invasion and spatial distribution of wild pigs (*Sus scrofa* L.) in Brazil. **Biological Invasions**, v. 24, p. 3681-3692, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02872-w>
- HORTER, D. C.; YOON, K. J.; ZIMMERMAN, J. J. A review of porcine tonsils in immunity and disease. **Animal Health Research Reviews**, v. 4, n. 2, p. 143-155, 2003. Doi: 10.1079/ahr200358. PMID: 15134296.
- HUNTER, D.; MCCALLUM, J.; HOWES, D. Defining exploratory-descriptive qualitative (EDQ) research and considering its application to healthcare. **Journal of Nursing and Health Care**, v. 4, n. 1, 2019. Disponível em: <http://eprints.gla.ac.uk/180272/>. Acesso em: 1 ago. 2022.
- INVASIVE SPECIES SPECIALIST GROUP. Global invasive species database. 2022. Disponível em: http://www.iucngisd.org/gisd/100_worst.php. Acesso em: 10 out. 2022.
- IUCN - International Union for Conservation of Nature. **The IUCN red list of threatened species**. 2019. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/search/details>. Acesso em: 10 set. 2022.
- MENG, X. J.; LINDSAY, D. S.; SRIRANGANATHAN, N. Wild boars as sources for infectious diseases in livestock and humans. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1530, p. 2697-2707, 2009. Doi: 10.1098/rstb.2009.0086.
- PIOVESAN, A.; TEMPORINI E. R. Pesquisa exploratória: procedimento metodológico para o estudo de fatores humanos. **Revista de Saúde Pública**, v. 29, n. 4, ago 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-89101995000400010>. Acesso em: 21 dez. 2022.
- RECH, R. R.; SILVA, M. C. da; SILVA, V. S. **Manual de necropsia para suídeos**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 114 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1014318/manual-de-necropsia-para-suideos>. Acesso em: 21 dez. 2022.
- SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Resolução SAA nº 41/2021**. Procedimentos para a vigilância epidemiológica, trânsito e destinação de carcaças de javalis, *Sus scrofa* e seus híbridos, no âmbito do Estado de São Paulo. Disponível em: <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/resolucao-saa-41-de-28-05-2021,1493.html>. Acesso em: 12 nov. 2022.

OLIVEIRA, C. H. S. de **Ecologia e manejo de javali (*Sus scrofa L.*) na América do Sul**. Rio de Janeiro, RJ: UFRJ, 2012. Disponível em: http://objdig.ufrj.br/50/teses/d/CCS_D_CarlosHenriqueSalvadorDeOliveira.pdf. Acesso em: 21 dez. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **One health initiative**. Geneva: WHO, 2022. https://www.who.int/health-topics/one-health#tab=tab_1. Acesso em: 26 jul. 2022.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **Guidelines for wildlife disease surveillance: an overview**. WOA, 2015. Disponível em: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/International_Standard_Setting/docs/pdf/WGWildlife/OIE_Guidance_Wildlife_Surveillance_Feb2015.pdf. Acesso em: 05 de set. de 2022.

Literatura recomendada

FREDRIKSSON-AHIMAA, M.; LONDON, L.; SKRZYPCZAR, T.; KANATALA, T.; LAAMEN, I.; BISTROM, M.; MANULA, L.; GADD, T. Foodborne zoonoses common in hunted wild boars. **EcoHealth**, v. 17, n. 4, p. 512-522, 2020. Doi: 10.1007/s10393-020-01509-5.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE). **Training manual on surveillance and international reporting of diseases in wild animals (Focal Point Manual)**. 2nd OIE Training Workshop for Focal Points on Wildlife. 2015. Disponível em: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/International_Standard_Setting/docs/pdf/WGWildlife/A_Training_Manual_Wildlife_2.pdf. Acesso em: 10 nov. 2022.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (WOAH). **Guidelines for Terrestrial Animal Health Surveillance (GTAHS)**. 2022. Disponível em: <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access/>. Acesso em: 5 out. 2022.

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Suínos e Aves
Rodovia BR 153 - Km 110
Caixa Postal 321
89.715-899, Concórdia, SC
Fone: (49) 3441 0400
Fax: (49) 3441 0497
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição

Versão eletrônica (2022)

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Suínos e Aves

Presidente

Franco Muller Martins

Secretária-Executiva

Tânia Maria Biavatti Celant

Membros

Clarissa Silveira Luiz Vaz, Cláudia Antunez Arrieche, Gerson Neudi Scheuermann, Jane de Oliveira Peixoto, Rodrigo da Silveira Nicoloso e Sara Pimentel

Suplentes

Estela de Oliveira Nunes

Fernando de Castro Tavernari

Supervisão editorial

Tânia Maria Biavatti Celant

Revisão técnica

Ana Paula Almeida Bastos

Marcos Antonio Zanella Mores

Revisão de texto

Jean Carlos Porto Vilas Boas Souza

Normalização bibliográfica

Claudia Antunes Arrieche

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Vivian Fracasso



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO

