



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
DIRETORIA DE PESQUISA, AVALIAÇÃO E MONITORAMENTO DA BIODIVERSIDADE
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE PRIMATAS BRASILEIROS

PROTOCOLO PARA COLETA DE AMOSTRAS DE MATERIAL BIOLÓGICO
DE CARÇAÇAS DE PRIMATAS E XENARTROS PARA ANÁLISES GENÉTICO-
MOLECULARES

1. Usar **luvas** ou sacos plásticos para se proteger e para não contaminar a amostra.
2. Usar **utensílios limpos**, de preferência esterilizados (ou utilizando álcool e água sanitária para limpeza), tais como: tesoura, pinça, bisturi, faca, canivete.
3. Coletar amostra de qualquer **músculo (cerca de 1cm³) ou ponta de orelha**.
4. Colocar a amostra em um tubo *ependorff* ou *falcon* ou pote de coleta universal – ou qualquer recipiente limpo! Uma amostra em cada recipiente!
 - Se estiver sem recipientes, pode colocar a amostra provisoriamente em um saco plástico limpo e, quando tiver condições, passar para um recipiente e seguir os próximos passos.
5. Cobrir completamente a amostra com RNAlater, solução de preservação de DNA (Anexo I), ou álcool. RNAlater ou a solução de preservação (Anexo I) são as melhores opções. Mas caso nenhuma destas esteja disponível, pode-se usar o álcool em qualquer concentração, mas o recomendado é de 70% a 100% (absoluto). Se não tiver álcool nessas concentrações, pode ser usado álcool de cozinha/farmácia (que geralmente é 46%).
6. **IMPORTANTE: Identificar a amostra!** Número da amostra, local, espécie (ou gênero).
7. Anotar a **localidade** de coleta preferencialmente com coordenadas obtidas com GPS, ou, pelo menos, o município.
8. Tirar **fotos** do animal (face, dorso, ventre, perfil) para auxiliar na identificação taxonômica.
9. O recipiente com a amostra e conservante (RNAlater, solução do anexo I ou álcool) deve ser **bem fechado** e pode ser enviado em **temperatura ambiente**.
 - Antes do envio, recomenda-se manter as amostras refrigeradas.
10. **Enviar a amostra** o mais rapidamente possível **para o CPB!**
 - Lembre-se de enviar as informações (local, espécie) e fotos do animal junto com a amostra!
11. **IMPORTANTE: este protocolo não substitui ou interfere naqueles utilizados pela Vigilância em Saúde para a verificação de epizootias, conforme preconizado pelo Ministério da Saúde.**

Enviar as amostras para:

CPB/ICMBio
A/C Amely B. Martins
Floresta Nacional da Restinga de
Cabedelo, BR 230, Km 10
Cabedelo/PB
CEP 58.310-000

Em caso de dúvidas, entrar em contato com:

(71) 98188-1076 (whatsapp)
<cpb@icmbio.gov.br>
Amely B. Martins <amely.martins@icmbio.gov.br>





**MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
DIRETORIA DE PESQUISA, AVALIAÇÃO E MONITORAMENTO DA BIODIVERSIDADE
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE PRIMATAS BRASILEIROS**

Anexo I

Receita para preparação de solução para preservação de material biológico para genética

A receita abaixo produz um volume total de aproximadamente 700 ml.

Material Necessário:

1. Reagentes químicos e soluções que devem ser preparadas anteriormente:
 - a) Sulfato de Amônia, P.A em pó.
 - b) Água destilada e esterilizada.
 - c) EDTA a 0.5M: 18.61g de EDTA dissódico dihidratado em 100 ml de água esterilizada. Ajustar o pH para 8.0 com NaOH enquanto a solução é misturada em agitador magnético.
 - d) Ácido sulfúrico (H₂SO₄)

2. Equipamentos:
 - a) Balança analítica
 - b) Destilador de água
 - c) Autoclave
 - d) Agitador magnético com aquecimento

Procedimentos:

1. Adicione 350g de Sulfato de Amônia em um pote de vidro com capacidade para 1000 ml (preferencialmente com tampa rosqueável) limpo e esterilizado (autoclavado).
2. Adicione 480 ml de água destilada e esterilizada no mesmo pote de vidro de 1000 ml.
3. Acondicione o pote em um agitador magnético com temperatura no nível 4 (em escala de 0-10). Deixe agitando durante toda noite (pelo menos 10 horas). Mantenha o pote bem tampado para evitar evaporação.
4. Adicione 20 ml de EDTA a 0.5 M e pH 8.0
5. Adicione 3.68 g de Citrato trissódico dihidratado (citrato de sódio com peso molecular 294.10)
6. Agite com agitador magnético aquecido até que a solução fique homogênea. Mantenha o pote bem tampado para evitar evaporação.

Espere a solução esfriar até a temperatura ambiente ($\approx 25^{\circ}\text{C}$) antes de ajustar o pH para 5.2. O pH deve ser ajustado com ácido sulfúrico concentrado. Aproximadamente 500 ul de H₂SO₄ serão necessários. O pH inicial ficará em torno de 7.0. Meça o pH a cada 100 ul de H₂SO₄ que é adicionado, até que o pH seja ajustado para 5.2.



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
DIRETORIA DE PESQUISA, AVALIAÇÃO E MONITORAMENTO DA BIODIVERSIDADE
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE PRIMATAS BRASILEIROS

PROTOCOLO PARA COLETA DE AMOSTRAS DE SANGUE DE PRIMATAS E
XENARTROS PARA ANÁLISES GENÉTICO-MOLECULARES

1. Usar **equipamentos de proteção individual (luvas, máscara e jaleco/avental)** na coleta de sangue para se proteger.
2. Coletar pelo menos **1ml de sangue em tubo com EDTA** (tampa roxa);
3. **A quantidade de sangue acondicionada no tubo não deve ultrapassar o volume preconizado pelo fabricante** (verificar a capacidade no tubo) – para evitar a coagulação do sangue. Caso seja coletada quantidade maior que a indicada para o tubo disponível, a amostra deverá ser dividida em mais de um tubo.
4. **IMPORTANTE: Identificar a amostra!** Número da amostra, local, espécie (ou gênero).
5. Anotar a **localidade** de coleta preferencialmente com coordenadas obtidas com GPS, ou, pelo menos, o município.
6. Tirar **fotos** do animal (face, dorso, ventre, perfil) para auxiliar na identificação taxonômica.
7. **Congelar** a amostra.
8. **Enviar a amostra refrigerada em gelo químico para o CPB!**
9. Lembre-se de enviar as informações (local, espécie) e fotos do animal junto com a amostra!
10. **IMPORTANTE: este protocolo não substitui ou interfere naqueles utilizados pela Vigilância em Saúde para a verificação de epizootias, conforme preconizado pelo Ministério da Saúde.**

Enviar as amostras para:

CPB/ICMBio
A/C Amely B. Martins
Floresta Nacional da Restinga de
Cabedelo, BR 230, Km 10
Cabedelo/PB
CEP 58.310-000

Em caso de dúvidas, entrar em contato com:

(71) 98188-1076 (whatsapp)
<cpb@icmbio.gov.br>
Amely B. Martins
<Amely.martins@icmbio.gov.br>

