

mv&z

REVISTA DE EDUCAÇÃO
CONTINUADA EM
MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DO CRMV-SP

JOURNAL OF CONTINUING EDUCATION IN
ANIMAL SCIENCE OF CRMV-SP

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO • ISSN 2179-6645 • VOL. 16 • Nº 1 • 2018

RUA APENINOS, 1.088 - PARAÍSO - CEP: 04104-021 - SÃO PAULO/SP

Mala Direta Postal
Básica

9912283873/DR-SPM
CRMV-SP

.....CORREIOS.....

FECHAMENTO AUTORIZADO.
PODE SER ABERTO PELA ECT.

RESUMOS

I Simpósio Internacional de
Medicina Veterinária Legal

PRODUÇÃO ANIMAL

Artigo discute sobre os sistemas de integração
lavoura-pecuária (ILP) como estratégia para
cadeias de produção animal e vegetal

ENSAIOS DE PRODUTOS DE USO VETERINÁRIO

Revisão narra o contexto atual da pesquisa clínica nas indústrias
e faculdades de Medicina Veterinária no Estado de SP



EX LIBRIS



CRMV-SP

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA
DO ESTADO DE SÃO PAULO – CRMV-SP

DIRETORIA EXECUTIVA

| | |
|---|--|
| Presidente | Méd. Vet. Mário Eduardo Pulga |
| Vice-Presidente | Méd. Vet. Odemilson Donizete Mossero |
| Secretário-Geral | Méd. Vet. Silvío Arruda Vasconcellos |
| Tesoureira | Méd. Vet. Margareth Elide Genovez |
| Conselheiros Efetivos | Méd. Vet. Alexandre Jacques Louis Develey Méd. Vet. Fábio Fernando Ribeiro Manhoso Méd. Vet. Flávio Massone Méd. Vet. Márcio Rangel de Mello Méd. Vet. Mitika Kuribayashi Hagiwara Méd. Vet. Otávio Diniz |
| Conselheiros Suplentes | Méd. Vet. Carlos Augusto Donini Méd. Vet. Luis Claudio Nogueira Mendes Méd. Vet. Maria Regina Baccaro Méd. Vet. Mirela Tinucci Costa Méd. Vet. Rodrigo Soares Mainardi Zoot. Sulivan Pereira Alves |
| URFAS | |
| Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Araçatuba | Rua Oscar Rodrigues Alves, 55, 7º andar, sl. 12 Fone: (18) 3622 6156 Fax: (18) 3622 8520 e-mail: dr.aracatuba@crmvsp.gov.br |
| Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Botucatu | Rua Amando de Barros, 1040 Fone/fax: (14) 3815 6839 e-mail: dr.botucatu@crmvsp.gov.br |
| Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Campinas | Av. Dr. Campos Sales, 532, sl. 23 Fone: (19) 3236 2447 Fax: (19) 3236 2447 e-mail: dr.campinas@crmvsp.gov.br |
| Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Marília | Av. Rio Branco, 936, 7º andar Fone/fax: (14) 3422 5011 e-mail: dr.marilia@crmvsp.gov.br |
| Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Presidente Prudente | Av. Cel. José Soares Marcondes, 983, sl. 61 Fone: (18) 3221 4303 Fax: (18) 3223 4218 e-mail: dr.prudente@crmvsp.gov.br |
| Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Ribeirão Preto | Rua Visconde de Inhaúma, 490, cj. 306 a 308 Fone/fax: (16) 3636 8771 e-mail: dr.ribeirao@crmvsp.gov.br |
| Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Santos | Av. Almirante Cochrane, 194, cj. 52 Fone/fax: (13) 3227 6395 e-mail: dr.santos@crmvsp.gov.br |
| Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – São José do Rio Preto | Rua Marechal Deodoro, 3.011, 8º andar Fone/fax: (17) 3235 1045 e-mail: dr.riopreto@crmvsp.gov.br |
| Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Sorocaba | Rua Sete de Setembro, 287, 16º andar, cj.165 Fone/fax: (15) 3224 2197 e-mail: dr.sorocaba@crmvsp.gov.br |
| Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Taubaté | Rua Jacques Felix, 615 Fone: (12) 3632 2188 Fax: (12) 3622 7560 e-mail: dr.taubate@crmvsp.gov.br |

REVISTA DE EDUCAÇÃO CONTINUADA EM MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DO CRMV-SP

Reconhecida como veículo de divulgação técnico-científica pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), Resolução nº 689, de 25 de julho de 2001.

INDEXAÇÃO A Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP está indexada na Base de Dados da Biblioteca Nacional de Agricultura (Binagri) e na Biblioteca Virtual em Medicina Veterinária e Zootecnia (BVS-Vet).

CONSELHO EDITORIAL
Editor científico: Méd. Vet. Silvío Arruda Vasconcellos
Editores associados: Méd. Vet. Alexandre Jacques Louis Develey
Méd. Vet. José Cezar Panetta
Méd. Vet. Eduardo Harry Birgel (Academia Paulista de Medicina Veterinária – Apamvet)

COMISSÃO EDITORIAL
Presidentes: Méd. Vet. Silvío Arruda Vasconcellos
Méd. Vet. Alexandre Jacques Louis Develey

Assessoria de Comunicação
Editor Responsável: Méd. Vet. Silvío Arruda Vasconcellos
Jornalistas Responsáveis: Laís Domingues - MTB: 59.079/SP e
Camila Garcia – MTB: 60.003/SP
E-mail: comunicacao@crmvsp.gov.br

Sede do CRMV-SP Rua Apeninos, 1.088, Paraíso – São Paulo (SP)
Tel.: (11) 5908 4799
Fax: (11) 5084 4907 Site: www.crmvsp.gov.br

Revisão Técnica: Academia Paulista de Medicina Veterinária – Apamvet
Projeto Gráfico: Plínio Fernandes – Traço Leal
Direção de Arte: Aline Maya | Tikinet
Diagramação: Patricia Okamoto | Tikinet
Coordenação editorial: Luan Maitan | Tikinet
Preparação: Dirceu Teixeira | Tikinet
Revisão: Caique Zen e Mariana Lari Canina | Tikinet
Impressão: Edigráfica Gráfica e Editora
Periodicidade: quadrimestral
Tiragem: 35.000 exemplares
Site: As edições da Revista MV&Z estão disponíveis no site
<http://revistas.bvs-vet.org.br/recmvz>.

Distribuição gratuita

7 Editorial**Ciências Básicas****8** Caracterização de uma nova mutação com perda de função do gene *Kmt2d* em camundongos**Saúde Pública Veterinária****16** Eficácia de ectoparasiticidas contra larvas de *Aedes aegypti*: nota de pesquisa**Clínica Veterinária****22** Fluidoterapia nos pacientes em choque séptico: revisão de literatura**Clínica Médica de Pequenos Animais****30** Nefropatia diabética em cães: revisão de literatura**Ensaio de Produtos de Uso Veterinário****38** O contexto atual da pesquisa clínica nas indústrias e faculdades de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo, Brasil**Produção Animal****46** Questões econômicas e gerenciais envolvidas na adoção e manutenção de sistemas de integração lavoura-pecuária**Resumos****54** I Simpósio Internacional de Medicina Veterinária Legal**98** Normas para Publicação

Capa: DepositPhotos



Uma publicação

CORPO DE REVISORES

Adriana Maria Lopes Vieira, CRMV-SP
Agar Costa Alexandrino de Perez, CRMV-SP
Alexandre Jacques Louis Develey, Apamvet/CRMV-SP
Alexander Welker Biondo, UFPR
Alice Maria Paula Della Libera, FMVZ USP
Ana Cristina Nery de Castro, Méd. Vet. Autônoma
Ana Paula de Araújo, CRMV-SP
Ana Carolina Brandão de Campos Fonseca Pinto, FMVZ-USP
Angelo João Stopiglia, FMVZ-USP/Apamvet
Antonio Carlos Paes, FMVZ-Unesp Botucatu
Antônio Guilherme Machado de Castro, CRMV-SP
Antonio J. Piantino Ferreira, FMVZ-USP
Arani Nanci Bomfim Mariana, Apamvet
Archivaldo Reche Junior, FMVZ-USP
Arsênio Caldeira Baptista Júnior, Med. Vet. Autônomo
Benedicto Wladimir de Martin, Apamvet
Bruno Machado Bertassoli, UFMG
Caris Marone Nunes, Unesp - Araçatuba
Carla Bargi Belli, FMVZ-USP
Carlos Alberto Hussni, FMVZ-Unesp Botucatu
Carlos Eduardo Larsson, CRMV-SP
Carlos Eduardo Malavasi Bruno, FMVZ-USP
Célia Regina Orlandelli Carrer, CRMV-SP
Celso Martins Pinto, Unisa
Ceres Berger Faraco, Amvebba
Clair Motos de Oliveira, FMVZ-USP
Cíntia Aparecida Lopes Godoy-Esteves, Hospital Veterinário Santa Inês
Cláudia Barbosa Fernandes, FMVZ-USP
Cláudia Rodrigues Emílio de Carvalho, Med. Vet. Autônoma
Cláudio Ronaldo Pedro, CRMV-SP
Daniel G. Ferro, FMVZ-USP
Édson Ramos de Siqueira, FMVZ-Unesp Botucatu
Eduardo Harry Birgel, Apamvet
Eduardo Harry Birgel Junior, FZEA- USP Pirassununga
Edviges Maristela Pituco, Instituto Biológico
Eliana Kobayashi, CRMV-SP
Eliana Roxo, Instituto Biológico
Éverton Kort Kamp Fernandes, UFG
Fábio Fernando Ribeiro Manhoso, UNIMAR - SP
Fábio Gregori, FMVZ-USP
Fernando José Benesi, FMVZ-USP
Flávio Massone, FMVZ-Unesp Botucatu
Francisco Rafael Martins Soto, IFSP - São Roque
Fumio Honma Ito, FMVZ-USP
Gilson Hélio Toniollo, FCAV-Unesp Jaboticabal
Helenice de Souza Spinosa, FMVZ-USP
Henrique Luis Tavares, CRMV-SP
João Palermo Neto, FMVZ-USP
John Furlong, Embrapa
Jorge Timenetsky, Instituto de Ciências Biomédicas - USP
José Antonio Jerez, FMVZ-USP
José Antônio Visintin, FMVZ-USP
José de Alvarenga, FMVZ-USP
José de Angelis Côrtes, Apamvet
José Henrique Ferreira Musumeci, Med. Vet. Autônomo
José Rafael Modolo, FMVZ-Unesp Botucatu
José Roberto Kfoury Júnior, FMVZ-USP
Josete Garcia Bersano, Instituto Biológico
Júlia Maria Matera, FMVZ-USP
Juliana Parreira Vasconcellos, Prefeitura Municipal de Santo André
Karime Cury Scarpelli, CRMV-SP
Leonardo Brandão, CEVA Saúde Animal
Luis Cláudio Lopes Correa da Silva, FMVZ-USP
Luiz Carlos Vulcano, FMVZ-Unesp Botucatu
Marcelo Bahia Labruna, FMVZ-USP
Marcelo da Silva Gomes, CRMV-SP
Marcelo Monte Mór Rangel, Vet Câncer
Márcia Mery Kogika, FMVZ-USP
Márcio Corrêa, UFPEL
Márcio Gárcia Ribeiro, FMVZ-Unesp Botucatu
Márcio Rangel de Mello, CRMV-SP
Marco Antônio Leon-Roman, FMVZ-USP
Marcos Veiga dos Santos, FMVZ-USP
Maria Cláudia Araripe Sucupira, FMVZ-USP
Mario Eduardo Pulga, CRMV-SP
Maristela Vasconcellos Cardoso, Instituto Biológico
Milton Kolber Unip Unimes Unisa, UNIP/Unimes/Unisa
Mitika Kuribayashi Hagiwara, Apamvet/CRMV-SP
Nádia Maria Bueno Fernandes Dias, CRMV-SP
Nilson Roberti Benites, CRMV-SP
Odemilson Donizete Mossero, CRMV-SP
Paulo Anselmo Nunes Filippi, Zoológico de Campinas
Paulo Eduardo Brandão, FMVZ-USP
Paulo Francisco Domingues, FMVZ Unesp Botucatu
Paulo Marcelo Tavares Ribeiro, CRMV-SP
Paulo Sérgio de Moraes Barros, FMVZ-USP
Raphael Lucio Andreatti Filho, FMVZ-Unesp Botucatu
Raimundo de Souza Lopes, FMVZ-Unesp Botucatu
Ricardo Augusto Dias, FMVZ USP
Ricardo Moreira Callil, CRMV-SP/MAPA
Rita de Cássia Maria Garcia, UFPR
Roberto Calderon Gonçalves, FMVZ-Unesp Botucatu
Roberto de Oliveira Roça, FMVZ-Unesp Botucatu
Sarita Bonagurio Gallo, FZEA- USP Pirassununga
Sílvia Ferrari, Universidade Anhembi Morumbi
Sílvio Arruda Vasconcellos, CRMV-SP
Sílvio Marcy dos Santos, Instituto Biológico
Simone de Carvalho Balian, FMVZ-USP
Solange Maria Gennari, FMVZ-USP
Sonia Regina Pinheiro, FMVZ-USP
Sony Dimas Bicudo, FMVZ-Unesp Botucatu
Stélio Pacca Loureiro Luna, FMVZ-Unesp Botucatu
Tália Missen Tremori, FMVZ-Unesp Botucatu
Terezinha Knöbl, FMVZ-USP
Vicente Borelli, Apamvet
Viviani Gomes, FMVZ-USP
Waldir Gandolfi, Apamvet
Wilson Roberto Fernandes, FMVZ-USP

**Fale conosco**

comunicacao@crmvsp.gov.br



Caros colegas:

A cada nova edição, a Revista *mv&z* vem ganhando mais reconhecimento. O retorno dos profissionais confirma o propósito para o qual a revista foi criada. Mais do que falar sobre a variedade de temas e a diversidade das áreas de conhecimento envolvidas nesta edição, este editorial gostaria de chamar a atenção do leitor para o aumento significativo de trabalhos recebidos comparado aos anos anteriores. Essa expansão indica um crescimento na produção acadêmica e no empenho de graduandos, docentes e profissionais, além de uma maior preocupação com a publicação de pesquisas individuais e coletivas.

Neste novo número, na área de Produção Animal, trazemos uma pesquisa que discute sobre os sistemas de integração lavoura-pecuária (ILP) como estratégia para cadeias de produção animal e vegetal; em Ciências Básicas é apresentada a caracterização de uma nova mutação com perda de função do gene *Kmt2d* em camundongos; a editoria de Saúde Pública Veterinária apresenta um estudo que aponta a eficácia de ectoparasiticidas contra larvas de *Aedes aegypti*. A área de Clínica Veterinária discorre sobre a fluidoterapia nos pacientes em choque séptico; na editoria de Clínica de Pequenos Animais, os autores dissertam a respeito da nefropatia diabética em cães; e em Ensaios de Produtos de Uso Veterinário, é apresentado um panorama atual da pesquisa clínica nas indústrias e faculdades de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo. Nesta publicação você poderá conferir também os resumos do I Simpósio Internacional de Medicina Veterinária Legal.

Entendemos que a produção técnico-científica é essencial ao desenvolvimento tecnológico, econômico e social. Por isso, a *mv&z* procura se pautar na qualidade dos artigos publicados, seguindo critérios de avaliação previamente definidos conforme as Normas de Publicação, a fim de transformar este veículo em um periódico respeitado e reconhecido nas áreas da Medicina Veterinária e da Zootecnia.

Esperamos que a confiança depositada nesta Revista se propague e se renove cada vez mais, propiciando uma maior visibilidade à produção acadêmica e profissional de nossos colegas de profissão. Reiteramos que este espaço é todo seu. Fique à vontade para submeter seus textos e enviar críticas ou sugestões.

Boa leitura!

Mário Eduardo Pulga
Presidente do CRMV-SP

"Nossas profissões terão a grandeza que dermos a elas. Esse desafio é de cada um de nós."

Caracterização de uma nova mutação com perda de função do gene *Kmt2d* em camundongos

Characterization of a new mutation with loss of function in the *Kmt2d* gene in mice

Resumo

O camundongo mutante recessivo *bate-palmas* (*bapa*) originou-se de mutagênese química induzida por ENU (N-ethyl-N-nitrosourea) e apresenta alterações posturais com movimentos anormais dos membros posteriores quando levantado pela cauda. No sequenciamento do exoma identificou-se uma mutação no gene *Kmt2d*, localizado no cromossomo 15, que foi confirmada pelo sequenciamento do DNA pelo método de Sanger. A perda da função do gene *KMT2D* localizada no cromossomo 12 em humanos foi descrita como responsável pela síndrome de Kabuki, que é uma anomalia congênita rara, autossômica dominante. O fenótipo clínico da doença é variável, mas algumas características mais comuns são face dismórfica, anormalidades esqueléticas, alterações nas impressões digitais, leve a moderado retardo mental e retardo do crescimento pós-natal. O presente trabalho teve como objetivo a análise do comportamento e da morfologia craniofacial dos camundongos *bapa* comparando com modelos de mutação do gene *Kmt2d* descritos na literatura.

Projeto aprovado pela CEUA FMVZ protocolo n. 1004070715. Apoio Financeiro: FAPESP processo 2016/23659-6

Abstract

The recessive mutant mouse named *bate-palmas* (*bapa*) – *claps* in Portuguese, originates from an ENU (N-ethyl-N-nitrosourea) mutagenesis program, presenting balance impairment and motor incoordination. Exome sequencing identified a mutation in the *KMT2D* gene, located on chromosome 15, which was confirmed by DNA sequence by the Sanger method. The loss of function of the gene *KMT2D*, located on chromosome 12 in humans, was described as being responsible for Kabuki syndrome, also known as Niiikawa-Koruki syndrome, which is a rare congenital anomaly, autosomal dominant. The clinical phenotype of the disease is variable, but some common characteristics are dysmorphic facial features, skeletal abnormalities, fingerprint alterations, mild to moderate cognitive problems and postnatal growth retardation. The objective of this study was to analyze the behavior and craniofacial morphology of *bapa* mice comparing to *KMT2D* gene mutation models described on literature.

Project approved by CEUA FMVZ, protocol no. 1004070715. Financial support: FAPESP process 2016/23659-6

Recebido em 21 de julho de 2017 e aprovado em 27 de novembro de 2017.

Pedro Kenzo Yamamoto¹

Nicássia Sousa Oliveira¹

Geissiane de Moraes Marcondes²

Marianna Manes¹

Mariana de Souza Aranha Garcia Gomes¹

Maria Martha Bernardi³

Tiago Antônio de Souza⁴

Sílvia Maria Gomes Massironi⁵

Claudia Madalena Cabrera Mori¹

Avenida Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, Biotério
Cidade Universitária, CEP: 05508-000
São Paulo/SP, Brasil
✉ pedrokyamamoto@gmail.com



Palavras-chave

ENU mutagênese. Camundongo mutante.
Gene Kmt2d. Síndrome de Kabuki.

Keywords

ENU mutagenesis. Mutant mouse.
Kmt2d gene. Kabuki syndrome.

Apesar dos avanços nas tecnologias moleculares, permitindo a criação de modelos murinos de doenças humanas com o emprego da manipulação direcionada do genoma, as mutações espontâneas e induzidas ainda são importantes para descoberta ou identificação de novos genes e funções. Além disso, os defeitos genéticos causados por mutações espontâneas ou induzidas podem ser semelhantes às mutações que ocorrem no genoma humano (DAVISSON et al., 2012).

ENU (N-ethyl-N-nitrosourea) é o agente mutagênico químico mais eficaz utilizado *in vivo* (RUSSELL et al., 1979; PROBST; JUSTICE, 2010). As mutações pontuais induzidas por ENU têm praticamente as mesmas características das mutações espontâneas (GUÉNET, 2004, 2005). Em machos o ENU atua nas espermatogônias, agindo na forma de um agente alquilante no DNA dos camundongos, resultando em mutações pontuais (SHIBUYA; MORIMOTO, 1993; GUÉNET, 2005; GONDO et al., 2010). Tendo em vista o conhecimento adquirido sobre o potencial mutagênico apresentado por ENU, Massironi et al. (2006) investigaram a indução de novas mutações em camundongos BALB/c e identificaram onze mutações. Entre as mutações recessivas identificadas, uma foi denominada *bate-palmas* (*bapa*), que é caracterizada pela movimentação anormal dos membros posteriores quando o camundongo é levantado pela cauda (Figura 1).

¹ Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Patologia – São Paulo, São Paulo, Brasil.

² Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Cirurgia – São Paulo, São Paulo, Brasil.

³ Universidade Paulista – São Paulo, São Paulo, Brasil.

⁴ Universidade de São Paulo, Centro de Facilidades de Apoio a Pesquisa – São Paulo, São Paulo, Brasil.

⁵ Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Imunologia – São Paulo, São Paulo, Brasil.

No sequenciamento do exoma, após mapeamento genético utilizando microssatélites, foi identificada como forte candidata uma mutação no gene lysine (K)-specific methyltransferase 2D (Kmt2d, também conhecido como Mll2 ou Mll4), localizado no cromossomo 15. Essa mutação foi confirmada por sequenciamento do DNA pelo método de Sanger. O gene Kmt2d é uma metil-transferase que promove a trimetilação da histona H3 lisina K4 (H3K4me3), levando à abertura da cromatina e à expressão gênica (BJORNSSON et al., 2014).



Figura 1 - Postura do camundongo *bapa* quando levantado pela cauda: os membros posteriores apresentam-se unidos.
Fonte: Arquivo pessoal.

Poucos modelos murinos já foram descritos para estudo do gene KMT2D, responsável pela síndrome de Kabuki em humanos. O modelo murinho Kmt2d^{Gt(RRT024)}^{Byg} apresenta alterações na neurogênese, além de déficit de memória relacionada com a atividade do hipocampo; inclui a má formação craniofacial, também identificada na síndrome de Kabuki em humanos (BJORNSSON et al., 2014). Outros modelos em camundongos que apresentam perda da função de um alelo para o gene Kmt2a (Mll1) e Kmt2b (Mll2) também apresentaram alterações na memória e aprendizagem, além de alterações na plasticidade sináptica e defeitos na neurogênese, sugerindo que ambos os genes possuem funções redundantes no hipocampo (KERIMOGLU et al., 2013; SHEN et al., 2014; JAKOVCEVSKI et al., 2015).

O presente estudo foi delineado para a caracterização do fenótipo dos camundongos *bapa* por meio

de experimentos de análise comportamental e exames radiográficos no auxílio da validação funcional como modelo de mutação do gene Kmt2d.

Material e métodos

Foram utilizados camundongos machos (n=30) provenientes do Biotério de Camundongos do Departamento de Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) e alojados por pelo menos uma semana antes do início dos experimentos no Biotério do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), ambos da Universidade de São Paulo (USP).

Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno (30x20x13cm) forradas com cama de sabugo de milho granulado e autoclavado, trocadas uma vez por semana. As condições ambientais foram: ciclo de claro/escuro de 12 horas, umidade relativa do ar de 55±10% e temperatura de 22±2°C. Ração comercial para camundongos (Nuvilab CR-1, Quimtia SA) e água filtrada e autoclavada foram oferecidas *ad libitum* durante todo o procedimento experimental.

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da FMVZ/USP sob protocolo de número: 1004070715.

Testes comportamentais

Para os experimentos comportamentais foram utilizados camundongos com dez semanas de idade, separados em grupos experimental *bapa* (n=15) e controle BALB/c (n=15).

Atividade geral em campo aberto

O campo aberto é utilizado para a observação da atividade geral dos camundongos para a caracterização quantitativa e qualitativa dos parâmetros exploratórios e motores em um ambiente novo (TATEM et al., 2014). O animal foi colocado na porção central do campo e observado durante cinco minutos (Figura 2). O tempo de locomoção e a frequência de levantar foram analisados com o programa OpenFLD.Ink (<https://goo.gl/BTKeDn>).

Coordenação motora em trave elevada

A trave elevada (Figura 3) foi empregada para avaliar possíveis alterações na coordenação motora de camundongos mutantes (LUONG et al., 2011). Nos dois primeiros dias, os camundongos foram treinados a andar sobre a trave em três tentativas com duração de cinco minutos cada. No terceiro dia foi realizado o teste, sendo considerada uma única tentativa de atravessar a trave. O desempenho dos camundongos no teste foi avaliado com a observação do tempo de travessia.

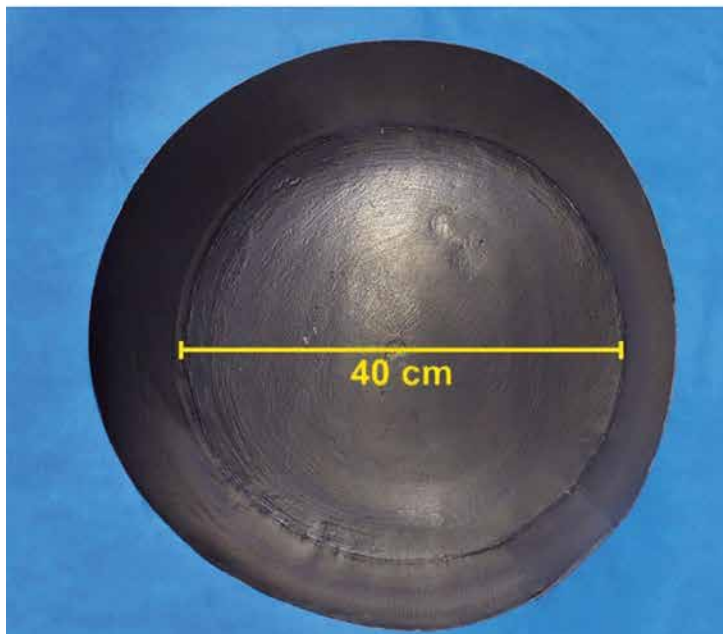


Figura 2 - Arena do campo aberto (visto de cima) em que os camundongos são colocados para a observação do seu comportamento, com sua respectiva dimensão.
Fonte: Oliveira, 2017.

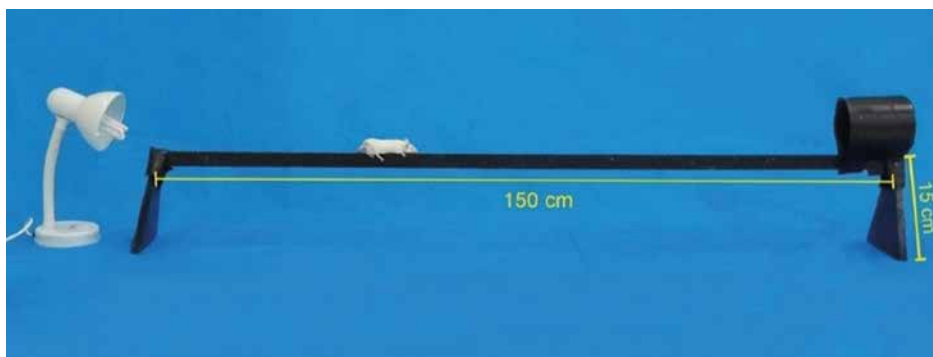


Figura 3 - Procedimento adotado para a análise do comportamento de camundongos. Trave elevada (vista de lado) com a lâmpada no início utilizada como estímulo aversivo e, na outra extremidade, o abrigo com cama da gaiola e suas respectivas dimensões.
Fonte: Oliveira, 2017.

Imagens radiográficas

Para as imagens radiográficas, foram utilizados camundongos machos *bapa* (n=10) e camundongos BALB/c (n=10) com doze meses de idade. Foi utilizado um equipamento radiográfico composto pelo aparelho MinX-Ray e placa modelo Mark IIG da marca Sound Eklin com 60 kV e 0,9 mAs. Os animais foram anestesiados e colocados em decúbito lateral sobre a placa a uma distância de 65 cm do aparelho, e as tomadas, projetadas látero-lateralmente, foram efetuadas a partir de uma incisão perpendicular ao plano filme-foco. A partir das imagens, foram definidas quatro medidas (Figura 4) e foi utilizado o programa ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/>) para a mensuração.



Figura 4 - Imagem radiográfica do crânio de camundongo destacando as medidas utilizadas nas análises enumeradas de 1 a 4. Fonte: Arquivo pessoal.

Análise estatística

A análise estatística foi feita com o programa GraphPadPrism 5.03, utilizando-se o teste t student ($p < 0,05$).

Resultados e discussão

O estudo de mutações em camundongos pode revelar novas funcionalidades para genes conhecidos, identificar genes subjacentes a doenças humanas ortólogas (casos em que o gene casual ainda não foi identificado) e pode proporcionar a investigação de novos fenótipos relevantes para as ciências biomédicas (DAVISSON et al., 2012). O modelo *bapa* com mutação localizada no gene *Kmt2d* apresenta alterações fenotípicas que comprometem o sistema motor. Esse gene foi relacionado com a síndrome de Kabuki, também conhecida como síndrome Niikawa-Koruki, que é uma anomalia congênita rara, autossômica dominante, caracterizada como uma mutação com perda de função no gene *KMT2D*, localizado no cromossomo 12 em humanos (BJORNSSON et al., 2014). O fenótipo clínico da síndrome de Kabuki é bastante variável, mas algumas características mais evidentes podem ser identificadas, tais como face

dismórfica, anormalidades esqueléticas, alterações nas impressões digitais, má formação visceral, leve a moderada deficiência cognitiva e diminuição do crescimento pós-natal (MAKRYTHANANISIS et al., 2013; BJORNSSON et al., 2014; SCHOTT et al., 2016). Os transcritos em camundongos e humanos apresentam 19.823 e 19.419 pares de bases e contêm 55 e 54 éxons, respectivamente. Sequências de alinhamento entre o material genético de camundongos e humanos revelou que os dois genes são 88% idênticos. As proteínas *KMT2D* em camundongos e humanos possuem 5588 e 5537 aminoácidos respectivamente, e ambos apresentam cerca de 600kDa de peso. Alinhamentos da sequência da proteína *KMT2D* revelaram que as duas proteínas são 90% idênticas (FROIMCHUK; JANG; GE, 2017).

Na análise no teste de campo aberto, os camundongos mutantes *bapa*, em relação aos camundongos controle, apresentaram atividade similar. Da mesma forma, os camundongos *Kmt2d^{Gt(RRT024)Byg}* e *Kmt2d^{+/+}* também não apresentaram déficit na atividade geral em campo aberto (BJORNSSON et al., 2014). A frequência de levantar (Figura 5) não apresentou diferença entre os grupos ($p=0,1907$).

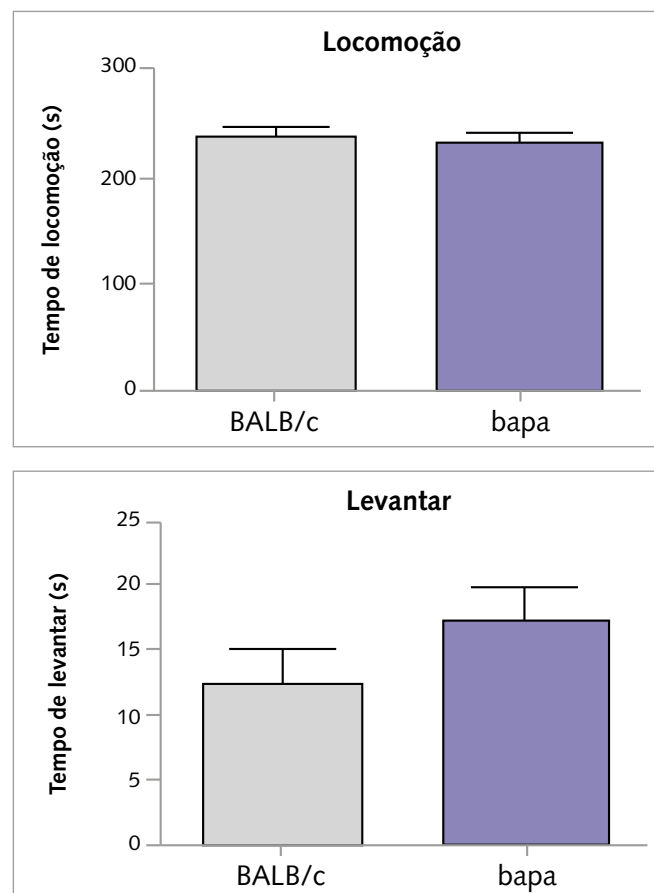


Figura 5 - Avaliação do tempo de locomoção (à esquerda) e frequência de levantar (à direita) dos camundongos *bapa* (n=15) e BALB/c (n=15) no teste de campo aberto. Fonte: Arquivo pessoal.

O tempo de travessia da trave elevada (Figura 6) foi maior para os camundongos *bapa* quando comparados aos seus controles ($p=0,0314$), fenômeno que pode estar associado com o prejuízo motor descrito na literatura como uma das principais evidências da perda de função do gene *Kmt2d* em camundongos (BJORNSSON et al., 2014). Durante a travessia, os animais mutantes *bapa* apresentaram maior dificuldade de manter o equilíbrio e utilizaram a cauda como auxílio, além dos frequentes escorregões dos membros posteriores, resultando em aumento do tempo de travessia.

Nas análises radiográficas do camundongo transgênico *Kmt2d*^{Gt(RRT024)Byg} foram evidenciadas diferenças morfológicas craniofaciais (BJORNSSON et al., 2014). Diferentemente do modelo descrito na literatura, as medidas definidas da região craniofacial dos camundongos *bapa* não diferiram das medidas dos camundongos do grupo controle (Figura 7).

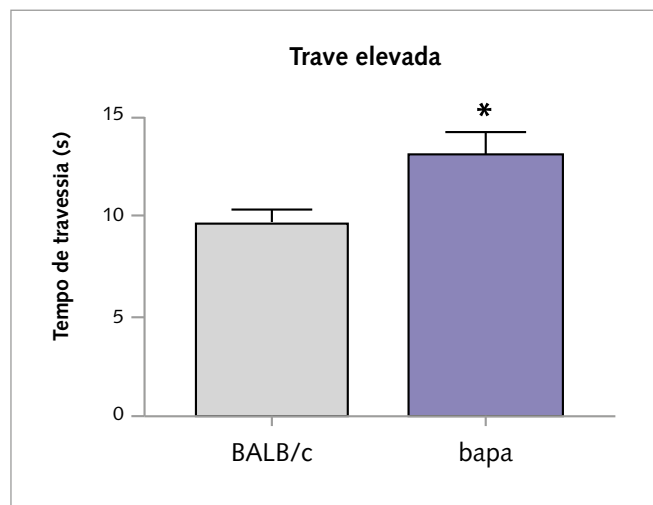


Figura 6 - Avaliação dos camundongos bate palmas (n=15) e BALB/c (n=15) no teste de coordenação motora observada em trave elevada. Fonte: Arquivo pessoal.

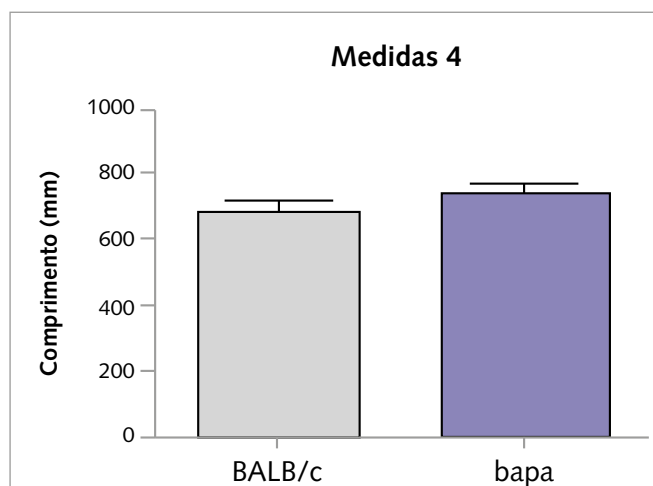
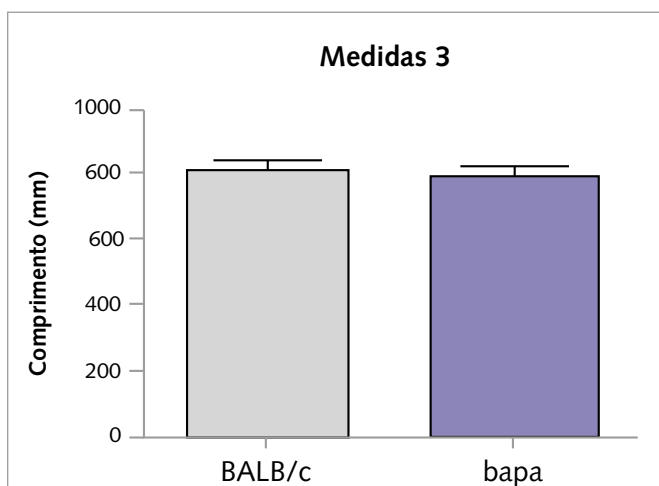
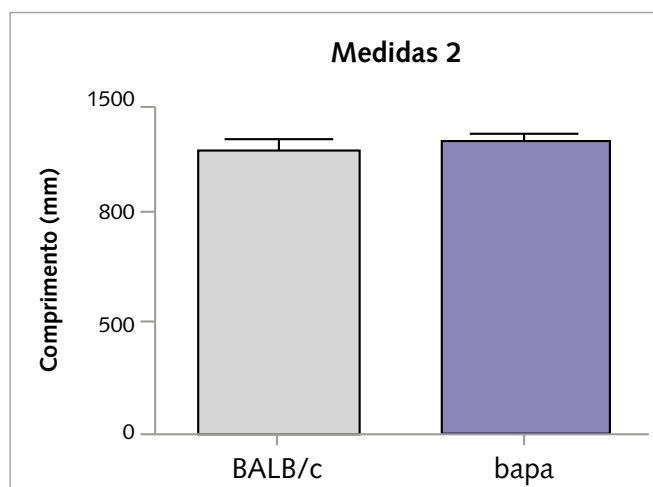
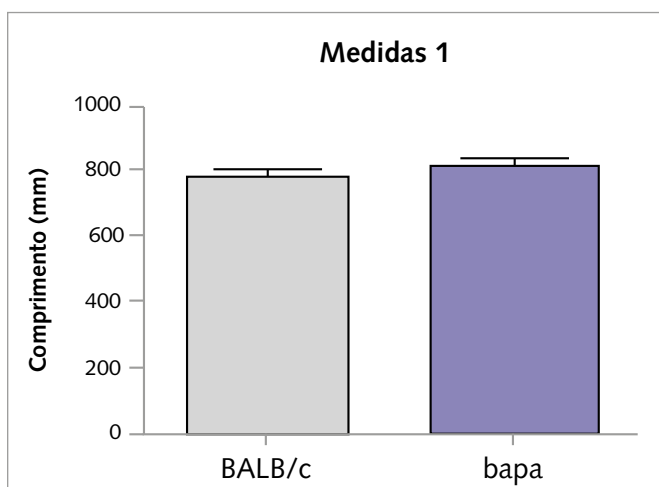



Figura 7 - Avaliação das medidas craniofaciais anteriormente estabelecidas em camundongos *bapa* (n=10) e BALB/c (n=10) nas radiografias. Fonte: Arquivo pessoal.

Os resultados obtidos evidenciam déficit motor no mutante *bapa*, resultado também encontrado em outros modelos murinos do mesmo gene (KERIMOGLU et al., 2013; BJORNSSON et al., 2014; SHEN et al., 2014; JAKOVCEVSKI et al., 2015). Observa-se que diferentes alelos do mesmo gene podem se expressar de forma diversa em “background” genético variado, uma vez que o modelo transgênico $Kmt2d^{Gt(RRT024)Byg}$ foi estabelecido em um “background” misto entre as linhagens isogênicas 129 e C57BL/6 e, o modelo aqui descrito foi induzido em camundongos da linhagem BALB/c. Observa-se ainda que a mutação $Kmt2d^{Gt(RRT024)Byg}$ é dominante, enquanto a mutação *bapa* é recessiva. 

Referências

- BJORNSSON, H. T. et al. Histone deacetylase inhibition rescues structural and functional brain deficits in a mouse model of Kabuki syndrome. **Science Translational Medicine**, Washington, v. 6, n. 256, p. 256ra135, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4406328/pdf/nihms616530.pdf>>. Acesso em: 30 jun. 2017.
- DAVISSON, M. T. et al. Discovery genetics: the history and future of spontaneous mutation research. **Current Protocols in Mouse Biology**, Hoboken, v. 2, p. 103-118, 2012.
- FROIMCHUK, E., JANG, Y., GE, K. Histone H3 lysine 4 methyltransferase KMT2D. **Gene**, Amsterdam, v. 627, p. 337-342, 2017.
- GONDO, Y. et al. ENU-based gene-driven mutagenesis in the mouse: a next-generation gene-targeting system. **Experimental Animals**, Tokyo, v. 59, n. 5, p. 537-548, 2010.
- GUÉNET, J. L. Chemical mutagenesis of the mouse genome: an overview. **Genetica**, Dordrecht, v. 122, n. 1, p. 9-24, 2004.
- _____. The mouse genome. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, v. 15, n. 12, p. 1729-1740, 2005.
- JAKOVCEVSKI, M. Neuronal *Kmt2a/Mll1* histone methyltransferase is essential for prefrontal synaptic plasticity and working memory. **The Journal of Neuroscience**, Washington, v. 35, n. 13, p. 5097-5108, 2015.
- KERIMOGLU C. et al. Histone-methyltransferase MLL2 (KMT2B) is required for memory formation in mice. **The Journal of Neuroscience**, Washington, v. 33, n. 8, p. 3452-3464, 2013.
- LUONG, T. N. et al. Assessment of motor balance and coordination in mice using the balance beam. **Journal of Visualized Experiments**, Boston, n. 49, e2376, 2011.
- MAKRYTHANASIS, P. et al. MLL2 mutation detection in 86 patients with Kabuki syndrome: a genotype-phenotype study. **Clinical Genetics**, Copenhagen, v. 84, n. 6, p. 539-545, 2013.
- MASSIRONI, S. M. et al. Inducing mutations in the mouse genome with the chemical mutagen ethylnitrosourea. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 39, n. 9, p. 1217-1226, 2006.
- OLIVEIRA, N. S. Caracterização fenotípica do camundongo mutante *bate palmas* induzido pelo agente mutagênico químico ENU (N- Ethyl- N- Nitrosourea) como potencial modelo para a síndrome de Kabuki. 2017. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, 2017.
- PROBST, F. J.; JUSTICE, M. J. Mouse mutagenesis with the chemical supermutagen ENU. **Methods in Enzymology**, New York, v. 477, p. 297-312, 2010.
- RUSSELL, W. L. et al. Specific-locus test shows ethylnitrosourea to be the most potent mutagen in the mouse. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 76, n. 11, p. 5818-5819, 1979.
- SCHOTT, D. A. et al. Growth pattern in Kabuki syndrome with KMT2D mutation. **American Journal of Medical Genetics. Part A**, Hoboken, v. 170, n. 12, 3172-3179, 2016.
- SHEN, E. et al. Regulation of histone H3K4 methylation in brain development and disease. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 369, n. 1652, p. 514, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4142035/pdf/rstb20130514.pdf>>. Acesso em: 30 jun. 2017.
- SHIBUYA, T.; MORIMOTO, K. A review of the genotoxicity of 1-ethyl-1-nitrosourea. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 297, n. 1, p. 3-38, 1993.
- TATEM, K. S. et al. Behavioral and locomotor measurements using an open field activity monitoring system for skeletal muscle diseases. **Journal of Visualized Experiments**, Boston, v. 91, e51785, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4672952/pdf/jove-91-51785.pdf>>. Acesso em: 30 jun. 2017.

Eficácia de ectoparasiticidas contra larvas de *Aedes aegypti*: nota de pesquisa

Effectiveness of ectoparasiticides against *Aedes aegypti* larvae: research note

Resumo

Foi avaliada a eficácia de produtos ectoparasiticidas contra larvas de *Aedes aegypti*. Os princípios ativos fluazuron 2,5 g, cipermetrina 150 g, flumetrina 1 g, propoxur 1 g, deltametrina 25 g, clorpirifós 30 g, cipermetrina 15 g, fenthion 15 g, diazinon técnico estabilizado 40 g, fipronil 2,5%, triclofone 97 g, coumafós 3 g, propoxur 2 g, fentione 15 g e amitraz 12,5% foram adquiridos comercialmente e preparados conforme recomendações dos fabricantes. Os produtos foram distribuídos em recipientes individuais contendo larvas de *A. aegypti* em ambiente controlado. A inspeção da viabilidade larval foi verificada durante 24 horas. Os produtos foram aplicados nos locais de coleta das larvas (criadouros dos mosquitos), vistoriados diariamente por um mês. Foi observado que 100% das larvas morreram em até 60 minutos, tanto nos recipientes monitorados em laboratório como no meio ambiente. Nas áreas em que foi realizada a pulverização com os inseticidas supramencionados, não foi verificada a presença de larvas por um período de até 30 dias. Concluiu-se que produtos comumente utilizados em animais como ectoparasiticidas foram eficazes contra larvas de *A. aegypti*, podendo ser utilizados para o controle desse importante vetor, caso tal utilização seja analisada e regulamentada pelos órgãos oficiais do país.

Abstract

This study evaluated the effectiveness of ectoparasiticides in the control of *Aedes aegypti* larvae. The following products were used: fluazuron 2,5 g, cypermethrin 150 g, flumethrin 1 g, propoxur 1 g, deltamethrin 25 g, chlorpyrifos 30 g, cypermethrin 15 g, fenthion 15 g, stabilized technical diazinon 40 g, fipronil 2,5%, trichlorfon 97 g, coumaphos 3 g, propoxur 2 g, fenthion 15 g, amitraz 12,5%. They were prepared according to the recommendations of the manufacturer and applied in containers containing *A. aegypti* larvae in a controlled environment. We inspected the larval viability every 24 hours. These same products were also applied in the collection environments of the larvae, and the breeding of mosquitoes was inspected daily for 30 days. We observed that 100% of the larvae died within 60 minutes on the containers in the laboratory and on the environment. In the sites that were sprayed, the presence of larvae was not verified for a period of up to 30 days. We concluded that these different products, used in animals as ectoparasiticides, were effective against *A. aegypti* larvae and could also be applied to control this important vector of several viral diseases if this type of use was analyzed and approved by official Brazilian regulations.

Recebido em 01 de agosto de 2016 e aprovado em 30 de agosto de 2017.

Willian Marinho Dourado Coelho^{1,2}

Katia Denise Saraiva Bresciani³

Wilma Starke Buzetti¹

Rua José Augusto de Carvalho, 160,
Bairro Vila Sanches, Andradina/SP, CEP: 16900-115
✉ willianmarinho@hotmail.com



Palavras-chave

Dengue. Febre amarela. Chikungunya.
Mosquitos. Zika vírus.

Keywords

Dengue. Yellow fever. Chikungunya fever.
Mosquitoes. Zika virus.

O *Aedes aegypti* é um importante parasito antropofílico, considerado vetor da dengue (TAUIL, 2001), da febre amarela (BRAGA; VALLE, 2007), do zika vírus (VASCONCELOS, 2015) e da chikungunya (DONALISIO; FREITAS, 2015), que ocasionam epidemias em todos os estados brasileiros e podem resultar em má-formação fetal de seres humanos (BRASIL, 2016a) e elevado número de óbitos (BRASIL, 2016b). No Brasil, a dengue é uma das doenças metaxênicas de maior importância, uma vez que o *A. aegypti* apresenta grande capacidade de adaptação ao ambiente urbano (LIMA-CAMARA; URBINATTI; CHIARAVALLOTI-NETO, 2016).

Fatores como bioclima, adaptabilidade do mosquito ao ambiente urbano, ausência de vacina eficaz, falta de investimentos básicos em recursos humanos como saneamento e a insensibilidade da população tornam essa arbovirose endêmica em todo o território nacional. Assim, devido ao fracasso dos modelos já utilizados para o controle desta enfermidade, o Programa Nacional de Controle da Dengue adotou como medida prioritária o combate em campo ao vetor (SILVA; MARIANO; SCOPEL, 2008), com destaque para a manutenção da vigilância entomológica, não só em ambientes artificiais como naturais (LIMA-CAMARA; URBINATTI; CHIARAVALLOTI-NETO, 2016).

¹ Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia, Departamento de Biologia e Zootecnia – Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

² Fundação Educacional de Andradina, Faculdade de Ciências Agrárias de Andradina – Andradina, São Paulo, Brasil.

³ Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária – Araçatuba, São Paulo, Brasil.

Dentre as formas utilizadas para o controle do *A. aegypti*, destaca-se o uso de produtos químicos: ovicidas, larvicidas e adulticidas. Entretanto, a utilização de tais produtos tem exercido uma pressão seletiva na população dos artrópodes, resultando no surgimento de variedades resistentes (LUNA et al., 2004, LIMA et al., 2006, BRAGA; VALLE, 2007; MACIEL-DE-FREITAS et al., 2014). Os diferentes grupos de inseticidas que têm sido empregados há décadas no combate ao *A. aegypti* incluem organofosforados, como temefós (BRASIL, 2001; CARVALHO et al., 2004) piretóides, carbamatos (BRAGA; VALLE, 2007) e malation (COLEONE, 2014).

Uma vez que o temefós, produto larvicida mais utilizado no Brasil contra o *A. aegypti*, já não apresenta a eficácia desejada (LIMA et al., 2006; DINIZ et al., 2014, MACORIS et al., 2014), o presente trabalho realizou o ensaio de 12 produtos químicos comercializados originalmente como ectoparasiticidas de animais de produção e de companhia. Nos testes de dose, esses produtos demonstraram mortalidade larval acima de 98%, conforme determina a Organização Mundial de Saúde, podendo vir a se constituir em um recurso auxiliar no controle de tais insetos.

Material e métodos

Captura das larvas

Larvas do mosquito *A. aegypti* foram coletadas diretamente do meio ambiente, em um total de 13 focos, em áreas periurbanas e urbanas do município de Andradina (latitude 20° 53' 43" S, longitude 51° 22' 46" W, altitude 405 m), situado no estado de São Paulo, Brasil (Figura 1). As larvas foram identificadas após montagem em lâmina, de acordo com chaves taxonômicas (FORATTINI, 1962). Os registros das variáveis climáticas foram obtidos diariamente junto ao INPE (INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS, 2016).

As larvas restantes permaneceram em seus criadouros para serem submetidas à aplicação dos produtos químicos *in loco*, dentro de recipientes como pneus, baldes, peças de cerâmica em cemitério, cochos e bebedouros de cães. Estes focos continham água estagnada e com poucos detritos. Assim, foram selecionados 13 focos, e cada inseticida foi pulverizado individualmente em um dos criadouros, incluindo o controle com água de bebida.

Em cada um dos 13 potes coletores universais foram colocadas 30 larvas em 50 mL de água proveniente de seus respectivos criadouros. A seguir, os produtos foram aplicados individualmente em cada um dos recipientes: fluazuron 2,5 g, cipermetrina 150 g, flumetrina 1 g, deltametrina 25 g, clorpirifós 30 g/cipermetrina 15 g/ fenthion

15 g, fipronil 2,5%, fentione 15 g, amitraz 12,5%, coumafós 3g associado ao propoxur 2 g, diazinon técnico estabilizado 40 g, propoxur 1 g, triclorfon 97 g, sendo que os quatro últimos apresentavam formulações em pó. O grupo-controle, com igual número de larvas, foi identificado como GC, recebendo apenas água mineral como tratamento (Figura 2).



Figura 1 - Larvas de *A. aegypti* capturadas em criadouros naturais no perímetro urbano do município de Andradina, São Paulo, 2016.
Fonte: Coelho et al., 2017.

Cada um dos tratamentos foi realizado em triplicata. Os produtos, adquiridos comercialmente, foram preparados e aplicados conforme as recomendações dos fabricantes. Todos os produtos foram distribuídos individualmente em cada uma das amostras com utilização de uma pipeta Pasteur e, no ambiente, com o pulverizador costal manual de 10 litros (Guarany[®]) em torno e dentro dos recipientes que atuavam como criadouros. Os produtos com apresentação em pó foram pesados e polvilhados sobre as amostras previamente alíquotadas (uma colher das de sopa rasa – 15g) e também nos criadouros (50g por m²), conforme recomendação do fabricante.



Figura 2 - Esquema de aplicação de parasiticidas externos em larvas de culicídeos. Grupo controle (A), grupo Amitraz 12,5% (B) e Grupo Diazinon técnico estabilizado 40g (C), 2016.
Fonte: Coelho et al., 2017.

O produto foi considerado letal após a morte de 100% das larvas analisadas, que se apresentavam totalmente imobilizadas no fundo dos recipientes, durante um período de 24 horas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1981). Com adoção deste critério, a característica do fármaco foi tida como nula (---) na ausência da morte das larvas ou escalonada como ruim (+), regular (++) , boa (+++) ou excelente (++++) no caso das larvas morrerem em até 1 dia, 12 horas, 60 minutos ou 15 minutos após a aplicação, respectivamente.

A repelência, avaliada por meio da inspeção visual periódica dos criadouros durante 30 dias ininterruptos, foi considerada nula (quando foram observadas larvas em qualquer um dos quatro primeiros dias pós-pulverização) e como elevada, moderada ou baixa na ausência de larvas

por até 30, 14 ou 7 dias, respectivamente. Este parâmetro de comparação foi estabelecido com base na média da taxa de reinfestação dos criadouros.

Resultados

Tanto nos recipientes mantidos em laboratório quanto no meio ambiente, a morte de 100% das larvas de *A. aegypti* ocorreu em até 60 minutos.

A repelência após a aplicação de todos os inseticidas foi excelente no criadouro em que foi usado o coumafós 3g associado ao propoxur 2g. Para os demais produtos utilizados no ambiente externo, esta característica foi considerada moderada.

| PRINCÍPIOS ATIVOS | LETALIDADE | REPELÊNCIA |
|---|------------|------------|
| Coumafós 3g / Propoxur 2g* | | E |
| Fluazuron 2,5g | | |
| Cipermetrina 150g/L | | |
| Flumetrina 1g | | |
| Propoxur 1g* | | |
| Deltametrina 25,0 g g/L | | |
| Fenthion 15,0g / Cipermetrina 15,0g / Clorpirifós 30,0g | | |
| Diazinon técnico estabilizado 40g* | +++ | M |
| Fipronil 2,5% | | |
| Triclorfone 97,0g* | | |
| Fentione 15g | | |
| Amitraz 12,5% | | |
| Água de bebida mineral (controle) | | N |

Legenda: *Apresentação em pó; / Associação de produtos; +++ Boa; E – Elevada; M – Moderada; N – Nula.

Tabela 1 - Eficácia de ectoparasiticidas originalmente comercializados para o controle de ectoparasitas de animais de produção e de companhia, contra larvas de *A. aegypti* segundo o tipo de ectoparasiticida, São Paulo, Brasil, 2016.
Fonte: Coelho et al., 2016.



Figura 3 - Larvas de *A. aegypti*.
Fonte: Coelho et al., 2017.



Figura 4 - Larvas de *A. aegypti* tratadas com endectocidas.
Fonte: Coelho et al., 2017.

Discussão

Foi constatada boa letalidade contra larvas de *A. aegypti* para todas as formulações investigadas e a repelência ambiental foi excelente para o coumafós 3g associado ao propoxur 2g e moderada para os demais produtos.

No estado de Goiás, a deltametrina 0,45 e 1% foi mais eficaz contra larvas de *A. aegypti* com até 36 horas de observação (SILVA et al., 1993). Nas condições do presente trabalho, o mesmo piretróide preparado conforme recomendação do fabricante (10 mL para cinco litros de água) apresentou 100% de eficácia já nos primeiros 60 minutos.

No Nordeste do Brasil, a resistência das larvas ao temefós foi constatada em mais da metade dos bairros onde foram coletadas amostras de larvas de *A. aegypti*, e a mortalidade dos insetos expostos ao produto foi nula

(LIMA et al., 2006). Em Campina Grande (Paraíba), também foram verificados altos percentuais de resistência ao temefós (DINIZ et al., 2014). Neste trabalho não foi avaliada a atividade do temefós na região, tendo em vista que não era objetivo da pesquisa comparar a eficácia entre as diferentes moléculas, mas demonstrar que produtos disponíveis comercialmente como ectoparasiticidas, usualmente utilizados na medicina veterinária, também podem atuar contra larvas do *A. aegypti*.

Nesse sentido, a utilização desses produtos no combate ao *A. aegypti* pode ser analisada e regulamentada pelos órgãos oficiais, levando-se em consideração questões particulares como forma de aplicação, cuidados a serem tomados pelos manipuladores, persistência no ambiente e impacto ambiental.

Conclusão

Diferentes produtos químicos utilizados originalmente no combate de ectoparasitos em animais de produção e companhia foram letais contra larvas de *A. aegypti* e auxiliaram na repelência dos mosquitos adultos, impedindo a reinfestação dos locais que atuavam como criadouros. Conclui-se, portanto, que esses produtos podem ser um recurso indicado para o controle do *A. aegypti*. ☺

Referências

- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismo de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, DF, v. 16, n. 4, p. 279-293, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor**: manual de normas técnicas. 3. ed. Brasília, DF: Fundação Nacional de Saúde, 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico**, Brasília, DF, v. 47, n. 1, 2016a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico**, Brasília, DF, v. 47, n. 2, 2016b.
- CARVALHO, M. S. L.; CALDAS, E. D.; DEGALLIER, N.; VILARINHOS, P. T. R.; SOUZA, L. C. K. R.; YOSHIZAWA, M. A. C.; KNOX, M. B.; OLIVEIRA, C. Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to the insecticide temephos in the Federal District, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 38, n. 5, p. 623-629, 2004.
- COLEONE, A. C. **Avaliação da dissipação do inseticida malation utilizado em nebulização a ultrabaixo volume no controle da dengue**: avaliação ecotoxicológica e de risco ambiental. 149 f. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- DINIZ, M. M. C. S. L.; HENRIQUES, A. D. S.; LEANDRO, R. S.; AGUIAR, D. L.; BESERRA, E. B. Resistência de *Aedes aegypti* ao temefós e desvantagens adaptativas. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 48, n. 5, p.775-782, 2014.
- DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R. Chikungunya no Brasil: um desafio emergente. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 283-285, 2015.
- FORATTINI, O. P. **Entomologia médica**. São Paulo: Faculdade de Higiene e Saúde Pública, 1962. v. I.
- INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. Centro e Previsão de Tempo e Estudos Climáticos. Disponível em:<<http://www.cptec.inpe.br/cidades/tempo/474>>. Acesso em: 24 de novembro de 2016.
- LIMA, E. P.; FILHO, A. M. O.; LIMA, J. W. O.; JÚNIOR, A. N. R.; CAVALCANTI, L. P. G.; PONTES, R. J. S. Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios do estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 39, n. 3, p. 259-263, 2006.
- LIMA-CAMARA, T. N.; URBINATTI, P. R.; CHIARAVALLOTI-NETO, F. Encontro de *Aedes aegypti* em criadouro natural de área urbana, São Paulo, SP, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 50, n. 3, p. 1-4, 2016.
- LUNA, J. E. D.; MARTINS, M. F.; ANJOS, A. F.; KUWABARA, E. F.; NAVARRO-SILVA, M. A. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephos e cipermetrina, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 38, n. 6, p. 842-843, 2004.
- MACIEL-DE-FREITAS, R.; AVENDANHO, F. C.; SANTOS, R.; SYLVESTRE, G.; ARAÚJO, S. C.; LIMA, J. B. P.; MARTINS, A. J.; COELHO, G. E.; VALLE, D. Undesirable consequences of insecticide resistance following *Aedes aegypti* control activities due to a dengue outbreak. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, n. 3, e92424, 2014.
- MACORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; WANDERLEY, D. M. V.; RIBOLLA, P. E. M. Impact of insecticide resistance on the field control of *Aedes aegypti* in the State of São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 47, n. 5, p.573-578, 2014.
- SILVA, I. G.; CAMARGO, M. F.; GUIMARÃES, F. L.; ELIAS, M.; OLIVEIRA, A. W. S. Estudo da eficácia da deltametrina (K-Othrine UBV 0,4 e 1%) no combate ao *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e ao *Culex quinquefasciatus* (Wiedmann, 1828) (Diptera, Culicidae). **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 22, n. 1, p. 49-56, 1993.
- SILVA, J. S.; MARIANO, Z. F.; SCOPEL, I. A dengue no Brasil e as políticas de combate ao *Aedes aegypti*: da tentativa a erradicação às políticas de controle. **Hygeia: Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, Uberlândia, v. 3, n. 6, p. 163-175, 2008.
- TAUIL, P. L. Urbanização e ecologia da dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, 99-102, 2001. Suplemento.
- VASCONCELOS, P. F. C. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas? **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 6, n. 2, p. 9-10, 2015.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Division of Vector Biology and Control. **Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides**. Geneva: World Health Organization, 1981. 6 p.

Fluidoterapia nos pacientes em choque séptico: revisão de literatura

Fluid therapy on patients in septic shock: literature review

Resumo

Sepse, definida pela Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS) secundária a um agente infeccioso, é uma afecção comum em cães e gatos e está relacionada a altos índices de morbidade e mortalidade nestas espécies. Sua patogenia é complexa e multifatorial, mas a instabilidade hemodinâmica tem sido apontada como fator relevante para o alto índice de óbito nos pacientes, pois gera hipóxia e subsequente disfunção de múltiplos órgãos. O tratamento é baseado na terapia guiada por metas e tem como objetivo restaurar o equilíbrio circulatório pela infusão de grandes quantidades de fluido, sendo que a escolha da fluidoterapia adequada é ainda muito controversa. Assim, esta revisão descreve a fisiopatogenia da seps e compara resultados do uso de colóides e cristalóides apresentados nos periódicos consultados.

Abstract

Defined by the Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS), which is secondary to an infectious agent, sepsis is a common affection in dogs and cats, being related to high morbidity and mortality rates in these species. The pathogenesis is multifactorial and complex. Hemodynamic instability is being identified as a key factor for the high mortality rate, since it causes hypoxia and subsequent multiple organ dysfunction. The treatment consists of goal-oriented therapy and the primary objective is to restore the circulatory balance through the infusion of large amounts of fluid. However, choosing the adequate fluid therapy is still very controversial. Thus, the objective of this review is to describe the pathophysiology of sepsis and to compare the results of the use of the colloids and crystalloids presented in the scientific articles analyzed.

Recebido em 09 de maio de 2017 e aprovado em 14 de novembro de 2017.

Natalia Alves Cardoso¹

Celso Braga Sobrinho¹

Rua Riachuelo, 255, Vila Vitoria
Mauá/SP, CEP: 09360-030
✉ naatalia.c@hotmail.com



Palavras-chave

Sepsis. Choque séptico. Fluidoterapia.
Coloides e cristaloides.

Keywords

Sepsis. Septic shock. Fluid resuscitation.
Colloids and crystalloids.

A sepse, definida pela Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS) secundária a um processo infeccioso, é uma afecção comum em cães e gatos, geralmente causada por bactérias Gram-positivas que ativam acentuadamente o sistema imunológico do paciente, levando-o a lesões endoteliais difusas, ativação da cascata de coagulação e diminuição da fibrinólise, que reduzem a perfusão tecidual sistêmica. Caso não haja tratamento adequado, a sepse pode causar disfunções orgânicas – denominada sepse grave – que, se não for responsiva à reposição volêmica, caracterizará choque séptico.

Os sinais clínicos da sepse muitas vezes são inespecíficos e não patognomônicos, com diagnóstico desafiador e dependente de exames complementares, como aferição da pressão venosa central, saturação de oxigênio em sangue venoso central e depuração de lactato.

A partir do diagnóstico da sepse, seu tratamento deverá se estabelecer o mais rápido possível com a “terapia guiada por metas” que preconiza, nas primeiras seis horas, o controle da pressão venosa central, do débito urinário e da pressão arterial média com emprego de reposição volêmica agressiva, bem como de medicamentos antimicrobianos e vasopressores. Em humanos, os fluidos cristaloides são amplamente utilizados como fluidoterapia de escolha, enquanto na Medicina Veterinária são utilizadas soluções coloides. Diante de tal divergência e da falta de estudos acerca da fluidoterapia ideal para cães e gatos, este trabalho revisa os aspectos da sepse e compara os benefícios e malefícios dos diversos tipos de fluido utilizados em animais em sepse grave e choque séptico.

¹ Universidade Metodista de São Paulo – São Paulo, São Paulo, Brasil.

Revisão de literatura

Fisiopatologia da sepse e choque séptico

O termo sepse se origina do grego *sêpsis* e significa putrefação ou morte (SALLES et al., 1999). Mesmo descrita há muitos anos na Medicina, somente em 1992 foi publicado um consenso sobre suas definições e diretrizes de tratamento (BONE et al., 1992). Em 2001, o segundo consenso em definições da sepse criou o sistema PIRO (predisposição, infecção, resposta e disfunção orgânica), que classifica o paciente quanto à gravidade e o prognóstico de parâmetros clínicos e laboratoriais (RABELLO et al., 2009).

Sepse é uma síndrome clínica caracterizada pela invasão de micro-organismos e/ou suas toxinas na corrente sanguínea associada à síndrome da resposta inflamatória sistêmica a essa invasão (BONE et al., 1992). Em alguns casos a sepse pode se agravar causando disfunção orgânica (por definição, sepse grave) e, se associada à instabilidade cardiovascular refratária à administração de fluidos, o paciente estará em choque séptico (BRADY et al., 2000).

Choque é um quadro clínico definido como a incapacidade do sistema circulatório em fornecer oxigênio aos tecidos, levando à diversas disfunções orgânicas, sendo classificado como cardiogênico, obstrutivo, distributivo ou hipovolêmico. O choque séptico é de origem inicialmente distributiva, mas em alguns casos pode se tornar hipovolêmico devido a grandes perdas hídricas para o interstício (MARTINS et al., 2013).

A patogenia da sepse inclui a ativação exacerbada da resposta imune aguda com liberação de citocinas pró inflamatórias, que determinam uma situação em que o organismo não consegue controlar o que ele próprio criou (BONE et al., 1992). A primeira resposta imune à infecção ou bacteremia é inespecífica e conta com a ativação de células fagocitárias como os macrófagos, monócitos e granulócitos polimorfonucleares, além da ação do sistema complemento. Em seguida, as células endoteliais são estimuladas pelas endotoxinas dos micro-organismos Gram-negativos e pelo ácido teicóico dos Gram-positivos, desencadeando a cascata inflamatória ao produzir inicialmente as interleucinas 1 e 6. O fator de necrose tumoral que ativa as células-alvo e induzem a produção de mediadores secundários, como interleucina -10, quimiocinas, espécies reativas de oxigênio, espécies reativas de nitrogênio, eicosanóides e enzimas proteolíticas, reativam os fagócitos e a cascata inflamatória, formando um ciclo vicioso.

A destruição do endotélio pela aderência de polimorfonucleares ativos aumenta a permeabilidade vascular e o edema tecidual, ampliando a reação inflamatória, particularmente na microcirculação dos pulmões, prejudicando assim a homeostasia e facilitando o crescimento

bacteriano disseminado (PEREIRA JÚNIOR et al., 1998). Vale ressaltar que o papel da interleucina-10 é inibir a síntese de outras citocinas, atuando como anti-inflamatório que promove a Síndrome da Resposta Anti-inflamatória Compensatória (CARS), responsável por agravar o quadro do paciente e provocar dissonância imunológica, em que a SIRS e a CARS acontecem concomitantemente (PEREZ, 2009). Este desequilíbrio promove a progressão da resposta imunológica à infecção, afetando desta forma os demais órgãos e tecidos saudáveis, podendo culminar na Síndrome da Disfunção Múltipla de Órgãos (CHACAR et al., 2014).

Além de alterações inflamatórias, as citocinas levam as células endoteliais a promover um quadro pró-coagulante e pró-trombótico pela expressão de tromboplastina, inibidor do ativador do plasminogênio e do fator ativador plaquetário, além da diminuição da produção de trombosmodulina, podendo causar coagulação intravascular disseminada (CID) e consequente obstrução do fluxo vascular, promovendo diminuição da perfusão tecidual e falência de órgãos e sistemas (SIQUEIRA-BATISTA et al., 2011).

Os distúrbios circulatórios encontrados na sepse são condizentes com um quadro de hipovolemia relativa, caracterizando o choque como distributivo. As alterações observadas são causadas principalmente pela produção intensa e desregulada de óxido nítrico pelas células endoteliais, aumentando o GMP cíclico (induzindo o relaxamento da musculatura lisa) e os níveis de bradicinina, um potente agente vasodilatador e hipotensor (KNOBEL, 1996). A ativação do sistema complemento com produção de C3 e C5 também colabora com a vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular (FRACASSO, 2008). A disfunção cardiovascular é complexa e motivada não só pelas mudanças de tônus vascular, como também pelas alterações sistólicas e diastólicas de ambos os ventrículos. A hipertensão pulmonar colabora para a disfunção ventricular direita, causando sua dilatação e deslocando o septo interventricular para a esquerda, dificultando assim o enchimento diastólico e consequentemente a pré-carga do ventrículo esquerdo (MITSUO; SHIMAZAKI; MATSUDA, 1992).

Clinicamente, os animais apresentam depressão, pulso fraco, taquicardia, taquipneia, mucosas congestas, aumento do tempo de preenchimento capilar, diminuição do débito urinário; inicialmente se observa hipertermia que, no entanto, evolui para hipotermia (BRADY et al., 2000). Nos gatos, a despeito de muitas vezes não apresentarem sinais clínicos marcantes, eventualmente registra-se a “tríade da morte dos felinos”, caracterizada por bradicardia, hipotensão e hipotermia (REDAELL, 2005). Os exames laboratoriais apontam hiperlactatemia, leucocitose ou leucopenia,

hipoalbuminemia, plaquetopenia, hiponatremia, hipocloremia, hipocalcemia e hiperbilirrubinemia (BARTON, 2005).

Os cães da raça Rottweiler e Dobermann apresentam predisposição a parvovirose e a possuir leucócitos mais reativos (com maior resposta inflamatória), com consequente pior prognóstico em relação à sepse. Já os gatos positivos para Vírus da Imunodeficiência Felina e/ou Vírus da Leucemia Felina, ou que façam quimioterapia possuem maior predisposição e pior prognóstico nos casos de sepse (CHACAR et al., 2014).

A peritonite é a causa mais frequente de sepse grave em cães e pode ser secundária à ingestão de corpo estranho, a neoplasias gastrintestinais, a enterotomias e a ruptura uterina por piometra (KALENSKY et al., 2012). Em gatos, a ocorrência de sepse se associa a, principalmente, abscessos hepáticos, piotórax, bacteremia, pneumonia, endocardite, pielonefrite, piometra, pancreatite séptica e meningite (CHACAR et al., 2014).

A reposição volêmica é a principal intervenção para o suporte hemodinâmico do paciente em choque séptico, e sua rápida intervenção eleva a taxa de sobrevivência e reduz as disfunções orgânicas permanentes (BOZZA et al., 2001). Em 2001 foi instituída a estratégia da terapia precoce guiada por metas, que preconiza uma vigorosa reposição volêmica a cada 30 minutos, até que sejam atingidas pressão venosa central situada entre 8 e 12 mmHg, pressão arterial média entre 65 e 90 mmHg e débito urinário $\geq 0,5$ ml/kg/hora, evitando danos por perfusão tissular inadequada (RIVERS et al., 2011). Vistas a gravidade dos quadros de choque séptico e a importância da reposição volêmica em sua reversão, muito se tem estudado acerca do melhor fluido a ser administrado. Fluidos cristaloides, como o Ringer Lactato e a solução

fisiológica, apresentam baixo peso molecular, promovem pouca alteração no volume plasmático e não são indicados para a expansão ou reposição volêmica; já os coloides, como os derivados do plasma e a Dextrana, de alto peso molecular, promovem o rápido aumento da pressão coloidosmótica e são os mais indicados em casos de choque (AULER JÚNIOR; FANTONI, 1999).

Além da instituição da reposição volêmica precoce, o tratamento da sepse pode incluir drogas vasoativas e inotrópicas, pois a disfunção vascular observada é multifatorial (RAMOS; AZEVEDO, 2014). A norepinefrina é o fármaco vasoativo mais indicado, sendo potencializado pela associação com a epinefrina ou a vasopressina (DELLINGER et al., 2013). O inotrópico de escolha é a dobutamina, utilizada em casos de disfunção miocárdica ou em pacientes em hipoperfusão mesmo após o controle da pressão arterial média (WESTPHAL et al., 2011). Nos pacientes não responsivos à reposição volêmica, os corticosteroides podem ser empregados no controle da pressão arterial, e dentre eles o mais indicado é a hidrocortisona por cinco dias ou, particularmente, pelo período de administração das drogas vasoativas (DELLINGER et al., 2013).

A manutenção do estado hemodinâmico deve se associar ao controle microbiano de início imediato, antes mesmo da obtenção do resultado dos exames de cultura. Os antibióticos de amplo espectro são indicados, e também deve ser considerada intervenção cirúrgica para a eliminação do foco infeccioso (CHACAR et al., 2014); o espectro do antibiótico utilizado deve ser reavaliado após 72h ou assim que o resultado da cultura estiver disponível. Outras medidas incluem o controle da glicemia, a nutrição enteral ou parenteral, o suporte ventilatório e a transfusão de plaquetas conforme a necessidade (DELLINGER et al., 2013).

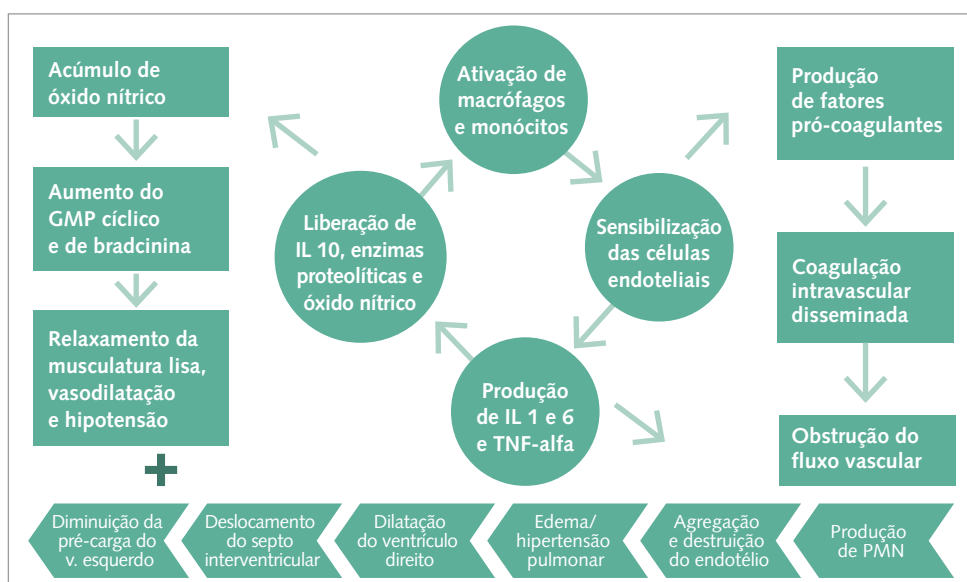


Figura 1 - Fisiopatogenia da sepse. Fonte: Elaborado pelos autores.

Cristaloide *versus* coloide durante a fluidoterapia na sepse e choque séptico

Em 2001 na França, 129 pacientes humanos em sepse grave ou choque séptico tratados com coloides foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: grupo 1, com 65 pacientes tratados com hidroxietilamido (HES), e grupo 2, com 64 pacientes tratados com gelatina. Vinte e sete pacientes do grupo 1 e 15 do grupo 2 desenvolveram insuficiência renal aguda (IRA), sugerindo que o uso de HES nos pacientes em choque séptico deve ser evitado, enquanto o uso de cristaloídes se mostrou mais seguro (SCHORTGEN et al., 2001). Em contrapartida, Sakr et al. (2007) analisaram os registros de 198 unidades de tratamento intensivo na Europa e não encontraram relação entre a administração de HES com a incidência de insuficiência renal, contudo levantando a hipótese de que tal resultado talvez se devesse ao emprego de doses menores de HES que o recomendado, ou ainda à incapacidade da mensuração da taxa de filtração glomerular, determinando um resultado possivelmente não fidedigno (SAKR et al., 2007). Já em 2004, um ensaio clínico realizado em 16 hospitais da Oceania com 6997 pacientes que necessitaram de ressuscitação hídrica por depleção volêmica e receberam aleatoriamente albumina 4% ou solução salina, não foi observada diferença entre os grupos em relação à quantidade de casos de Disfunção Múltipla de Órgãos, nem no período de permanência na Unidade de Terapia Intensiva (UTI), levando o autor a declarar indiferença na escolha de albumina em relação à solução salina (THE SAFE STUDY INVESTIGATORS, 2004).

Nesse mesmo ano, o Núcleo de Ensino e Pesquisa do Centro de Terapia Intensiva do Hospital Israelita Albert Einstein e a Associação de Medicina Intensiva Brasileira realizaram o primeiro Consenso Brasileiro de Sepse, evento delineado para aprimoramento e padronização do diagnóstico e tratamento da sepse em todos os hospitais brasileiros. Para tanto, diversos especialistas da comunidade científica brasileira foram convidados a escrever sobre questões como epidemiologia, fisiopatologia, diagnóstico e tratamento do paciente séptico, e classificar as recomendações de “A” para as de grande evidência a “D” para menor evidência. Foi relatada indiferença na formação de edema pulmonar no uso de coloides em relação ao uso de cristaloídes, sendo que o único ponto negativo no uso de coloides foi o custo elevado. Portanto, os dois fluidos foram satisfatórios e apresentaram recomendação de grau “C” (AKAMINE et al., 2004).

Brunkhorst et al. (2008) compararam os resultados do uso de HES ou de Ringer Lactato em 600 pacientes em choque séptico, contudo a análise foi interrompida antes do esperado pelo seu alto teor de risco, pois houve

um alto índice de óbito após 90 dias de tratamento em consequência da insuficiência renal nos pacientes que receberam HES, sugerindo que este medicamento não deveria ser utilizado por seu efeito cumulativo tóxico provocar insuficiência renal aguda e por estar ligado ao óbito. Durante tratamento do choque séptico, a associação de albumina e solução cristaloide não foi superior ao tratamento realizado unicamente com a solução, haja vista que o número de óbitos foi equivalente nos dois tipos de tratamentos realizados após 90 dias de acompanhamento. (CAIRONI et al., 2014).

Chest (2012 apud MYBURGH et al., 2012) constatou que não havia diferença na mortalidade entre os pacientes humanos em choque séptico tratados apenas com salina 0,9% ou com a associação de salina 0,9% e hidroxietilamido, entretanto pacientes que receberam ressuscitação com HES precisaram de terapia de substituição renal.

A análise dos resultados de 78 trabalhos comparando o uso de coloides ou cristaloídes no tratamento da sepse em humanos, dos quais: 70 trabalhos apresentaram dados relacionados à mortalidade, dos quais 56 compararam o tratamento coloide *versus* cristaloide; 11 de comparação entre coloide no cristaloide hipertônico *versus* cristaloide isotônico; e três ensaios comparando coloide *versus* cristaloide hipertônico não encontraram evidências de que as soluções coloides reduzissem o risco de morte, e que o HES poderia até aumentar a mortalidade (PEREL; ROBERTS; KER, 2013).

A Associação de Medicina Intensiva Brasileira, juntamente com a Sociedade Brasileira de Infectologia e o Instituto Latino Americano de Sepse elaboraram um documento indicando a melhor alternativa de ressuscitação hemodinâmica nos diferentes estágios da sepse em seres humanos, com base na análise dos resultados apresentados nos artigos do acervo PubMed, (Pesquisa Bibliográfica em Publicações Médicas). Em relação aos fluidos, foi descrita a ausência de benefício no uso de coloides como expansores plasmáticos, existindo inclusive a possibilidade de que o seu uso aumentasse a mortalidade por disfunção múltipla orgânica (WESTPHAL et al., 2011).

Na Medicina Veterinária, Caldeira (2010), verificou que, em cadelas com piometra evoluída para quadro de sepse, não houve melhora na pressão coloidosmótica após a administração de solução coloide, e que valores baixos desta pressão estavam diretamente ligados a níveis elevados de falência múltipla de órgãos.

Strano et al. (2010) constataram que não houve diferença no fluxo renal de ratos com sepse induzida por ligadura e punção do ceco tratados com solução salina isotônica ou com solução hipertônica, mas que a pressão arterial se reestabeleceu mais adequadamente nos animais tratados com a solução hipertônica.

Em 2012, um comitê de 68 especialistas discutiu o melhor protocolo de tratamento para pacientes humanos em sepse; as recomendações foram classificadas em evidência alta como “A” a muito baixa como “D”, e recomendação forte como “1” ou “2” como fraca. O consenso obtido foi que a reposição volêmica agressiva deve ser realizada a partir do momento de identificação de hipoperfusão, e que nas primeiras seis horas devem ser alcançados níveis de pressão venosa central situados entre 8 e 12 mmHg, pressão arterial média maior ou igual a 65 mm Hg e diurese maior ou igual a 0.5 mL/kg/hr, recomendação esta de grau 1C. Com relação ao tipo de fluidoterapia, os cristaloides foram considerados melhor escolha e o uso de HES não foi recomendado para qualquer momento da sepse ou do choque séptico, recomendação de grau 1B. Para tal afirmação foi levado em conta que não houve qualquer benefício no uso de coloides quando comparado a cristaloides em três testes randomizados (n = 704), e que as soluções coloidais apresentavam um custo muito mais elevado. Além disso, foram usados três estudos recentes, denominados Crystmas, 6S e Chest, que comparam o uso de HES com outros fluidos. O estudo com Crystmas comparou o uso de HES com solução salina 0,9% e não constatou diferença na mortalidade entre os grupos; o estudo 6S registrou o aumento da mortalidade nos pacientes em que foi utilizado HES em relação aos que utilizaram Ringer; e o estudo Chest comparou o uso de HES com solução salina isotônica 18% e não verificou a existência de superioridade em nenhum dos fluidos com relação a taxa de mortalidade, mas o grupo que usou HES teve maior necessidade de terapia de substituição renal, em 7% (DELLINGER et al., 2013).

Considerações finais

Nesta revisão da literatura não foi observada melhora nos pacientes humanos com o uso associado de coloides a cristaloides em relação ao uso somente de cristaloides, além de relacionar o uso de coloides ao aumento da incidência de insuficiência renal aguda, indicando superioridade dos cristaloides no tratamento de sepse e choque séptico. Na Medicina Veterinária não existem estudos suficientes para uma conclusão adequada sobre o efeito do uso de coloides em comparação aos cristaloides. ☹

Referências

AULER JÚNIOR, J. O. C.; FANTONI, D. T. Reposição volêmica nos estados de choque hemorrágico e séptico. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Rio de Janeiro, v. 49, n. 2, p. 126-138, mar./abr. 1999.

AKAMINE N. et al. Suporte hemodinâmico. In: CONSENSO brasileiro de sepse: parte III. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 16, n. 4, p. 241-245, out./dez. 2004.

BARTON, L. Sepsis and the systemic inflammatory response syndrome. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (Eds.). **Textbook of veterinary internal medicine**. 6. ed. Toronto: W. B. Saunders, 2005. p. 452-454.

BRADY, C. A. et al. Severe sepsis in cats: 29 cases (1986-1998). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 217, n. 4, p. 531-535, aug. 2000.

BRUNKHORST, F. M. et al. Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 358, n. 2, p. 125-139, jan. 2008.

BONE, R. C. et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. **Chest**, Glenview, v. 101, n. 6, p. 1644-1655, jun. 1992.

BOZZA, F. A. et al. Early fluid resuscitation in sepsis: evidence and perspectives. **Shock**, Augusta, v. 34, p. 40-43, sep. 2010. Supplement 1.

CAIRONI, P. et al. Albumin replacement in patients with severe sepsis or septic shock. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 370, n. 15, p. 1412-1421, apr. 2014.

CALDEIRA, J. A. **Correlação da pressão coloidosmótica com a evolução clínica de cadelas com sepse submetidas a tratamento intensivo**. 107 f. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

CHACAR, F. C. et al. Sepse em felinos. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 21, n. 1, p. 64-76, mar. 2014.

DELLINGER, R. P. et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. **Critical Care Medicine**, Mount Prospect, v. 41, n. 2, p. 580-637, feb. 2013.

FRACASSO, J. F. Contribuição ao entendimento da patogenia da sepse. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 29, n. 2, p. 119-127, maio/ago. 2008.

KALENSKI, T. A. et al. Identificação das bactérias envolvidas na sepse grave de fêmeas caninas com piometra submetidas a ovariectomia terapêutica. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 49, n. 2, p. 130-138, mar./abr. 2012.

KNOBEL, E. Óxido nítrico e sepse. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v. 67, n. 4, p. 263-266, out. 1996.

MARTINS, H. S. et al. **Emergências clínicas: abordagem prática**. 8. ed. Barueri: Manole, 2013. p. 1190.

MITSUO, T.; SHIMAZAKI, S.; MATSUDA, H. Right ventricular dysfunction in septic patients. **Critical Care Medicine**, Mount Prospect, v. 20, n. 5, p. 630-634, may 1992.

MYBURGH, J. A. et al. Hydroxyethyl starch or saline for fluid resuscitation in intensive care. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 367, n. 20, p. 1901-1911, nov. 2012.

- PEREIRA JÚNIOR, G. A. et al. Fisiopatologia da sepse e suas implicações terapêuticas. **Medicina**: Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, v. 31, p. 349-362, jul./set. 1998.
- PEREL, P.; ROBERTS, I.; KER, K. Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, London, v. 28, n. 2, p. CD000567, feb. 2013.
- PEREZ, M. C. A. **Epidemiologia, diagnóstico, marcadores de imunocompetência e prognóstico da sepse**. 2009. 106 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.
- RABELLO, L. S. C. F. et al. Entendendo o conceito PIRO: da teoria à prática clínica: parte 1. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 21, n. 4, p. 425-431, out./dez. 2009.
- RAMOS, F. J. S.; AZEVEDO, L. C. P. Suporte hemodinâmico no choque sépticos. In: AZEVEDO, L. C. P.; MACHADO, F. R. (Orgs.). **Sepse**. São Paulo: Atheneu, 2014. p. 13-20.
- REDAELL, R. **Choque em felinos**. 2005. 76 f. Monografia (Graduação em Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
- RIVERS, E. et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 345, n. 19, p. 1368-1337, nov. 2001.
- THE SAFE STUDY INVESTIGATORS. A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the Intensive Care Unit. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 350, n. 22, p. 2247-2256, may 2004.
- SAKR, Y. et al. Effects of hydroxyethyl starch administration on renal function in critically ill patients. **British Journal of Anaesthesia**, London, v. 98, n. 2, p. 216-224, feb. 2007.
- SALLES, M. J. C. et al. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica/sepse: revisão e estudo da terminologia e fisiopatologia. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 45, n. 1, p. 86-92, jan./mar. 1999.
- SCHORTGEN, F. et al. Effects of hydroxyethylstarch and gelatin on renal function in severe sepsis: a multicentre randomised study. **The Lancet**, London, v. 357, n. 9260, p. 911-916, mar. 2001.
- SIQUEIRA-BATISTA, R. et al. Sepse: atualidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 207-216, abr./jun. 2011.
- STRANO, T. R. et al. Análise comparativa da reposição volêmica com solução isotônica e solução hipertônica em ratos com sepse. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 22, n. 4, p. 321-326, out./dez. 2010.
- WESTPHAL, G. A. et al. Diretrizes para tratamento da sepse grave/choque séptico: ressuscitação hemodinâmica. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 13-23, jan./mar. 2011.

Nefropatia diabética em cães: revisão de literatura

Diabetic nephropathy in dogs: literature review

Resumo

O diabetes mellitus que se desenvolve por deficiência de insulina e hiperglicemia crônica usualmente apresenta complicações que incluem catarata, retinopatia, infecções recorrentes e cetoacidose. A hiperglicemia crônica pode promover complicações a longo prazo como a nefropatia diabética. Nos humanos, a nefropatia diabética é caracterizada principalmente por lesão glomerular e geralmente está associada a hipertensão arterial sistêmica. Dentre os mecanismos propostos para a fisiopatologia da nefropatia diabética tem sido referida a lesão glomerular, assim como a lesão nos túbulos renais. Contudo, até o momento existem poucos estudos investigando a relação entre diabetes mellitus e lesão renal em cães. Esta revisão tem por objetivos esclarecer os possíveis mecanismos fisiopatológicos da nefropatia diabética e discutir o conhecimento disponível sobre sua ocorrência em cães.

Abstract

Diabetes mellitus caused by insulin deficiency and chronic hyperglycemia usually presents complications including cataract, retinopathy, recurrent infections and ketoacidosis. Chronic hyperglycemia can cause long-term complications such as diabetic nephropathy. In humans, diabetic nephropathy is characterized mainly by glomerular injury and usually it is associated with systemic hypertension. The mechanisms proposed for the pathogenesis of diabetic nephropathy could be glomerular injury, as well as renal tubular damage. However, there are few studies analyzing the relationship between diabetes mellitus and kidney damage in dogs. The objective of this review is to clarify the pathophysiological mechanisms of diabetic nephropathy and to analyze the available information about its occurrence in dogs.

Recebido em 07 de setembro de 2016 e aprovado em 25 de agosto de 2017.

Cynthia Ribas Martorelli¹
Márcia Mery Kogika¹
Douglas Segalla Caragelasco¹

Av. Prof. Dr. Orlando Marques Paiva, 87
Cidade Universitária, São Paulo/SP
CEP: 05508-270
✉ cinthiarm@usp.br



Palavras-chave

Canino. Rim. Hiperglicemia.
Diabetes mellitus.

Keywords

Canine. Kidney. Hyperglycemia.
Diabetes mellitus.

O diabetes mellitus insulino dependente é a endocrinopatia mais comum entre cães, e se define como um estado hiperglicêmico crônico causado pela deficiência na síntese ou pelo comprometimento na ação da insulina (deficiência relativa ou absoluta), ou ainda por fatores antagonistas da insulina (NELSON, 2015). Complicações a curto prazo decorrentes do estado diabético são comuns em cães, sendo as mais frequentes a cegueira devido ao desenvolvimento de catarata, a pancreatite crônica e as infecções recidivantes do trato urinário, do sistema respiratório e da pele (HESS et al., 2000).

Nos humanos, as complicações crônicas mais graves, como nefropatia, retinopatia e neuropatia, são observadas após 10 a 20 anos do diagnóstico do diabetes mellitus, e mesmo que em cães estas pareçam ser raras, ainda não foram realizadas investigações de longa duração em caninos (WARRAM et al., 1996).

As complicações crônicas do diabetes mellitus ocorrem nos tecidos que não dependem de insulina para entrada de glicose no interior das células – a retina, os rins e os nervos periféricos são os tecidos-alvos (ROSSING; HOUGAARD; PARVING, 2002; OH et al., 2012). Baseando-se nos estudos realizados em humanos diabéticos, foram propostas duas hipóteses para explicar o desenvolvimento das complicações tardias do diabetes mellitus nesses tecidos. A primeira se refere à presença de anormalidades metabólicas, secundárias ao estado hiperglicêmico, resultando em alterações estruturais e funcionais de células em que o excesso de glicose no meio intracelular afeta o metabolismo lipídico e aumenta a produção de radicais livres,

¹ Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Clínica Médica – São Paulo, São Paulo, Brasil.

provavelmente envolvidos na patogenia das complicações do diabetes mellitus. A segunda se refere à existência de uma vasculopatia como causa principal, provocando alterações estruturais e funcionais nos vasos sanguíneos. A nefropatia, a neuropatia e a retinopatia são complicações microvasculares do diabetes mellitus (WARRAM et al., 1996; CARAMORI; PARKS; MAUER, 2013).

Nos pacientes humanos, a nefropatia diabética é uma complicação bastante frequente, reconhecida como importante fator no desenvolvimento de doença renal crônica. Nos estágios iniciais, caracteriza-se por hiperfiltração e hiperperusão glomerular, associadas ao desenvolvimento de alterações morfológicas como espessamento da membrana basal glomerular e expansão tubulointerstitial, porém sem manifestação clínica. As alterações morfológicas iniciais observadas na nefropatia diabética incluem hipertrofia glomerular, espessamento da membrana basal e tubular, além de expansão da matriz extracelular do mesângio glomerular (ROSSING; HOUGAARD; PARVING, 2002; NAUTA et al., 2011; Moriya et al., 2012; CARAMORI; PARKS; MAUER, 2013).

Em seres humanos, o aumento da excreção urinária de albumina indica a evolução da patologia, que passa a ser denominada nefropatia diabética incipiente. Nos estágios mais avançados foram observadas outras alterações, como glomeruloesclerose, falência dos capilares glomerulares, degeneração e fibrose tubulointerstitial, associadas ao declínio da função renal (ROSSING; HOUGAARD; PARVING, 2002; NAUTA et al., 2011; NIELSEN et al., 2011; Moriya et al., 2012; Khazim et al., 2013).

Assim, a alteração característica da nefropatia diabética é a proteinúria, um marcador de gravidade e de progressão para doença renal crônica nesses pacientes. Ainda, a patogenia da nefropatia diabética se relaciona com a duração do diabetes mellitus, o controle glicêmico e com fatores genéticos (STOLAR, 2010).

Nos seres humanos com nefropatia diabética, foi demonstrado que a glomerulopatia ocorre antes das alterações túbulo-intersticiais, o que não foi observado em ratos diabéticos (KANG et al., 2005; Nadarajah et al., 2012; Pourghasem; Nasiri; SHAFI, 2014). Assim, os ratos com diabetes mellitus experimental, induzida por aloxano ou por estreptozotocina, podem não ser o modelo ideal para o estudo da nefropatia diabética humana, pois apresentam principalmente glomeruloesclerose e lesões vasculares (KANG et al., 2005; ALPERS; HUDKINS, 2011; NIELSEN et al., 2011; Pourghasem; Nasiri; SHAFI, 2014). O depósito de glicogênio nas células tubulares também foi observado nos humanos com nefropatia diabética, principalmente nos ductos coletores e na alça de Henle descendente, que provavelmente ocorre no

estágio terminal da nefropatia diabética (KANG et al., 2005; Pourghasem; Nasiri; SHAFI, 2014).

Em humanos diabéticos, as lesões tubulares foram observadas na biópsia, porém ainda não está totalmente elucidado se a proteinúria é inicialmente resultante de alterações na barreira de filtração glomerular, da perda da capacidade de reabsorção do túbulo proximal ou de lesão intersticial. Ainda, é provável que a lesão das células tubulares aumente a excreção urinária de proteínas por comprometer a reabsorção dessas normalmente filtradas pelo glomérulo – o desenvolvimento de doença glomerular acarreta lesão tubulointerstitial exacerbada e redução ainda maior de reabsorção. Talvez a “piora da proteinúria glomerular” possa refletir maior prejuízo na reabsorção do túbulo proximal frente às proteínas filtradas pelo glomérulo, logo a magnitude da proteinúria pode decorrer do grau de lesão tubular e/ou glomerular e/ou intersticial verificada (NAUTA et al., 2011; NIELSEN et al., 2011; KIM et al., 2013).

Ainda nos humanos diabéticos, acredita-se existir lesão em diferentes locais dos néfrons, como nas células endoteliais glomerulares, na membrana basal glomerular, nos podócitos e no túbulo proximal (JEFFERSON; SHANKLAND; PICHLER, 2008). Dessa forma, os mecanismos propostos incluem: hiperglicemia crônica; lesão nos podócitos; lesão tubulointerstitial; ativação do sistema-renina-angiotensina-aldosterona; ação de fatores de crescimento pró-fibróticos e subsequente fibrose intestinal; ação de citocinas inflamatórias e lesões vasculares.

A falta de um controle glicêmico adequado em humanos promove inicialmente hipertrofia e espessamento da membrana basal glomerular, aumento na síntese proteica da matriz mesangial, além de maior produção de prostaglandinas vasodilatadoras, contribuindo para hiperperusão, hipertensão e hiperfiltração intraglomerular (LOPES-VIRELLA et al., 1979). Paralelamente, em estudo experimental executado com ratos diabéticos submetidos a um controle glicêmico inadequado, foi observado o aumento da taxa de filtração glomerular, ocasionado por hipertensão intraglomerular e maior reabsorção de sódio e glicose (JENSEN et al., 1987), achados semelhantes aos observados em pacientes humanos (MOGENSEN, 1971). Rasch (1979) ressalta que o controle glicêmico inadequado em ratos diabéticos se associa a uma maior excreção urinária de albumina. Lee et al. (1974) ressaltam que essas lesões podem ser minimizadas ou evitadas com controle glicêmico adequado, e que dependem da duração e da intensidade do tratamento com insulina.

Lee et al. (1974) observaram que as lesões renais, características do diabetes mellitus, são revertidas quando o rim é transplantado para um animal não diabético. Assim,

a hiperglicemia ativa estimula a atuação de outros mecanismos envolvidos no desenvolvimento da nefropatia diabética, tais como: maior produção de matriz extracelular do mesângio glomerular; alterações bioquímicas da matriz extracelular; alteração de fatores hemodinâmicos que promovem hipertrofia renal (FARIA, 2001).

A hiperglicemia em humanos também altera a hemodinâmica renal, com posterior aumento da taxa de filtração glomerular e do fluxo plasmático renal logo nos estágios iniciais da nefropatia diabética, também contribuindo para o aparecimento de proteinúria e alterações histológicas nos rins (VORA; ANDERSON; BRENNER, 1994). Em modelos animais este fato também foi observado, resultando no aumento da pressão intraglomerular com consequente lesão endotelial e da produção de matriz extracelular, fatores envolvidos na progressão na nefropatia diabética, mesmo sob controle glicêmico adequado (ZATZ et al., 1985, 1986).

A hipertrofia renal se associa à hipertrofia glomerular e ao aumento da taxa de filtração glomerular no estágio inicial do diabetes mellitus, e também à atuação de fatores de crescimento, tanto em ratos quanto em humanos diabéticos. Porém, o mecanismo e o papel exato destes fatores ainda não estão totalmente elucidados no desenvolvimento da nefropatia diabética (DOI et al., 1988; BACH et al., 2000; FLYVBJERG, 2000; FARIA, 2001).

Outro mecanismo bastante discutido é a ocorrência de lesão nos podócitos em humanos que, juntamente com a hiperglicemia, atuam como principais responsáveis por lesão nas células endoteliais glomerulares. Paralelamente há queda do número de podócitos (também denominado de podocitopenia), permitindo a passagem de proteínas para a urina (proteinúria), podendo evoluir para glomerulosclerose e comprometimento da função renal (FIORETTO et al., 1992; SUSZTAK et al., 2006).

O mecanismo de podocitopenia não está totalmente elucidado, mas acredita-se que a hiperglicemia promova a liberação de radicais livres, causando a apoptose destas células (FIORETTO et al., 1992; SUSZTAK et al., 2006). Geralmente, o número de podócitos se preserva nos estágios iniciais da nefropatia diabética, porém alguns fatores como descolamento dos podócitos do glomérulo, apoptose de podócitos, que coincide com maior excreção urinária de albumina, incapacidade para proliferação dos podócitos, alteração do citoesqueleto e perda da carga negativa podem desencadear a podocitopenia. Posteriormente, ocorre diminuição da capacidade reabsortiva tubular, com progressiva fibrose intersticial (MAUER, 1994; SUSZTAK et al., 2006).

A patogenia da nefropatia diabética em seres humanos também é marcada pela ativação do sistema

renina-angiotensina-aldosterona. Dessa forma, a renina produzida converte o angiotensinogênio em angiotensina I, e a enzima conversora de angiotensina transmuta a angiotensina I em angiotensina II, a qual atua localmente em diferentes tecidos, como rins, coração e vasos sanguíneos, de maneira sistêmica ao promover a homeostase cardiovascular por meio de receptores específicos. Nos rins, a angiotensina II estimula a retenção hídrica no túbulo proximal ao estimular a produção de aldosterona pela zona glomerular das glândulas adrenais. Esta proteína está envolvida na patogenia da nefropatia diabética, pois altera a matriz extracelular glomerular com consequente hipertrofia, associada à deposição de colágeno na matriz extracelular, que é característica deste quadro clínico (FERREIRA; ZANELLA, 2000). Em associação a este quadro, a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona causa constrição seletiva da arteríola eferente, aumentando também a pressão intraglomerular, contribuindo assim no desenvolvimento e perpetuação da nefropatia diabética (MYERS et al., 1982).

Nos pacientes humanos as alterações vasculares também estão presentes na nefropatia diabética e são representadas pela arteriosclerose e pela hialinose das arteríolas glomerulares aferente e eferente. Também foram observadas lesões exsudativas no espaço subendotelial e sobre a camada parietal da cápsula de Bowman's. Estas lesões por sua vez resultam em adesão do tufo glomerular seguidas da ruptura da membrana basal glomerular, retração e remodelamento glomerular. Ainda foram verificados microaneurismas nas alças dos capilares glomerulares e posteriormente constatou-se lesão tubulointersticial (MAUER, 1994).

Nos cães, as complicações crônicas mais graves do diabetes mellitus como nefropatia diabética parecem ser raras, pois em humanos esse tipo de complicação pode necessitar de um tempo longo de evolução do diabetes mellitus, situando-se em torno de dez a vinte anos (HESS et al., 2000; BLOOM; RAND, 2013; HERRING; PANCIERA; WERRE, 2014).

Em ensaio experimental realizado em cães da raça Beagle, os animais foram divididos em dois grupos e submetidos a nefrectomia unilateral para a investigação da nefropatia diabética. O grupo 1 foi composto por cães que tinham controle glicêmico regular com o único intuito de evitar cetoacidose diabética, e o grupo 2, por animais que apresentaram controle glicêmico adequado pela administração de insulina duas vezes ao dia. Dos animais dos dois grupos experimentais foram coletados fragmentos de tecido renal, antes e após 6 e 12 meses da indução do diabetes mellitus, submetidos a análise por microscopia óptica e eletrônica (STEFFES et al., 1982). Após um ano de evolução do diabetes mellitus, todos os

cães do grupo 1 apresentaram no exame histopatológico dos rins as alterações: expansão mesangial glomerular, glomerulonefropatia membranosa associada com fusão dos podócitos, espessamento da membrana basal glomerular e tubular mesangial, aumento da produção de matriz extracelular do mesângio glomerular, presença de depósitos subendoteliais, fibrose glomerular e glomerulosclerose (nodular ou não), demonstrando que o cão pode ser um modelo para o estudo da nefropatia diabética, e que o estabelecimento de controle glicêmico adequado pode prevenir o aparecimento de nefropatia diabética (STEFFES et al., 1982).

Kern e Ergerman (1990), em investigação experimental realizada com cães, constataram que o controle glicêmico inadequado relacionava-se com maior excreção urinária de proteínas, e que poderia ser, em parte, resultante de lesão glomerular. Ainda observaram que o grau de excreção de proteína urinária variou com o controle glicêmico, e no exame histopatológico dos rins foram constatadas obliteração glomerular e expansão mesangial.

A fisiopatologia do aumento da excreção urinária de proteínas no diabetes mellitus em cães é desconhecida, porém sabe-se que diferentes mecanismos como anormalidades bioquímicas, morfológicas e hemodinâmicas estão envolvidos. A primeira hipótese seria a presença de lesão glomerular e, posteriormente, a excessiva secreção tubular de proteínas como a beta-microglobulina. Assim, nos estudos de indução experimental de diabetes mellitus do tipo 1 nos cães foi observado o desenvolvimento de doença renal à semelhança dos pacientes humanos (STEFFES et al., 1982; KERN; ERGERMAN, 1990; BLOOM; RAND, 2013; HERRING; PANCIERA; WERRE, 2014).

Struble et al. (1998) realizaram uma avaliação pontual com cães diabéticos em que foi observada proteinúria em 20% dos casos avaliados por meio do aumento da razão proteína: creatinina urinária (RPC) maior que 0,5 e da razão albumina: creatinina urinária (RAC) maior que 0,03. Constataram que a proteinúria foi associada com hipertensão sistêmica (24% dos cães avaliados) e com a duração do diabetes mellitus, entretanto a importância clínica desses achados ainda não foi totalmente esclarecida.

Kogika et al. (2007), em uma avaliação clínica e de observação pontual em cães diabéticos, investigaram a ocorrência de microalbuminúria e de hipertensão arterial sistêmica e verificaram a relação das alterações com o tempo de evolução do diabetes mellitus. Para isso foi empregado um teste semiquantitativo (Early Renal Damage – HealthScreen® Test – Heska Corporation, Loveland, CO), com resultado negativo para 52,9% dos casos, “fraco positivo” em 6%, “médio positivo” em 23,5% e “alto positivo” em 17,6% dos casos. Nos cães com resultados

médio e alto positivo, a duração média do diabetes mellitus foi de 18,2 meses, sugerindo que o tempo de evolução da doença poderia estar relacionado com a proteinúria, e não com a hipertensão arterial sistêmica.

Contudo, a hipertensão arterial sistêmica em cães diabéticos ainda requer estudos verticalizados e de acompanhamento sequencial, pois há escassez de resultados concretos que justifiquem a semelhança na evolução do quadro observado em cães com o registrado na medicina humana, em que a hipertensão arterial sistêmica se correlaciona à duração do diabetes mellitus e ao controle glicêmico dos pacientes.

Na avaliação pontual em cães com diabetes mellitus, Kogika et al. (2007) constataram que 46% dos animais apresentaram hipertensão arterial sistêmica, positivamente correlacionada com a duração do diabetes mellitus. Entretanto, para que uma avaliação adequada da pressão arterial sistêmica seja realizada, a mensuração deverá ser tomada em diversos momentos, ou seja, é preciso confirmar se os valores aumentados da pressão arterial são mantidos ou sustentados; o efeito da hipertensão decorrente de estresse deverá ser descartado, e além disso são necessários alguns cuidados durante o procedimento de mensuração, tais como a ambientalização do animal para amenizar o estresse, bem como a determinação da largura correta do manguito – que deve ser selecionada a partir da mensuração do diâmetro do membro (preferencialmente torácico) em centímetros –, a qual deve corresponder a 40% do comprimento da circunferência do membro (BROWN et al., 2007). Destaca-se ainda que o animal deverá ser mantido em uma única posição durante todo o procedimento (por exemplo, em decúbito esternal), com o esfigmomanômetro sempre na altura do átrio direito (BROWN et al., 2007). O registro correto será obtido pela determinação da média de cinco a sete aferições e ainda, após uma semana, deverá ser confirmado se a pressão sistólica é superior a 150 mmHg (que denota presença de hipertensão arterial sistêmica), desde que não haja evidências de lesões em órgãos-alvo relacionadas à hipertensão, com cuidado especial para as lesões oculares retinianas (BROWN et al., 2007).

Os mecanismos etiológicos exatos da nefropatia diabética no cão ainda não são conhecidos, mas provavelmente o processo conta com uma etiologia multifatorial e, no presente momento, os textos em medicina veterinária têm extrapolado as informações disponíveis na medicina humana (BLOOM; RAND, 2013; HERRING; PANCIERA; WERRE, 2014).

Em Medicina Veterinária, a avaliação da condição da proteinúria ser de origem renal e patológica foi estabelecida por Lees et al. (2005), que destacam a necessidade da

confirmação da sua persistência por um período mínimo de quinze e máximo de trinta dias. Ressalta-se, contudo, que essa persistência deverá ser avaliada após a exclusão de diversas outras doenças concomitantes como: infecção do trato urinário, neoplasias, urolitíase, ureterolitíase, nefrolitíase, hiperadrenocorticismo, doenças infecciosas, doenças inflamatórias e uso de alguns medicamentos, como glicocorticóides e inibidores da enzima conversora de angiotensina.

Nas investigações realizadas por Struble et al. (1998), Mazzi et al. (2008) e Herring, Panciera e Werre (2014) não foram adotados os períodos propostos por Lees et al. (2005), portanto os resultados de tais ensaios não permitem a afirmação de que a proteinúria foi decorrente de lesão renal, consequentemente patológica.

Mazzi et al. (2008) constataram albuminúria e hipertensão sistêmica, respectivamente, em 25% e 35% dos cães diabéticos examinados. No entanto, os cães foram avaliados apenas uma única vez e, de acordo com os critérios estabelecidos por Lees et al. (2005), não se confirma portanto a existência de proteinúria renal patológica. Já Herring, Panciera e Werre (2014) constataram a ocorrência de albuminúria em 55% dos casos de cães diabéticos que acompanharam.

Martorelli et al. (2016), em uma observação sequencial realizada com cães diabéticos, não verificaram o desenvolvimento de nefropatia diabética, investigada por meio da constatação de proteinúria renal patológica, durante o período do estudo, o que provavelmente não ocorreu devido ao bom controle glicêmico adotado, como também ao menor tempo de acompanhamento dos animais avaliados.

Nos cães diabéticos, a nefropatia diabética talvez apresente um curso diferente do observado em humanos, pois a hipertensão arterial sistêmica não é uma alteração frequente em cães com diabetes mellitus. Deste modo, torna-se necessária a realização de investigações longitudinais que avaliem sequencialmente a proteinúria e identifiquem as proteínas específicas decorrentes de lesões glomerulares ou tubulares para que seja determinada a sua persistência e confirmada a proteinúria renal patológica. Essas avaliações deverão ser realizadas juntamente com a mensuração da pressão arterial sistêmica. Também deve ser considerado que o desenvolvimento da nefropatia diabética pode ser prevenido em cães submetidos a um controle glicêmico adequado (MARTORELLI et al., 2016). Estudos de longo prazo efetuados em cães com diabetes mellitus não tratado adequadamente poderiam confirmar a hipótese de que a falta de controle glicêmico adequado causaria lesões renais, no entanto, certamente tal estudo seria considerado não plausível e antiético.

Considerações finais

Em Medicina Veterinária ainda há poucas investigações de longa duração avaliando a presença de lesão renal com proteinúria em cães diabéticos. Ainda falta confirmação definitiva da existência de proteinúria renal patológica, persistente e não associada a outras doenças concomitantes que também poderiam causar a mesma alteração. Portanto, ainda não existem evidências suficientes para atestar que cães com diabetes mellitus apresentem risco de nefropatia diabética, como ocorre em seres humanos.

Agradecimentos

Agradecimento à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). ☺

Referências

- ALPERS, C. E.; HUDKINS, M. S. Mouse models of diabetic nephropathy. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, Philadelphia, v. 20, n. 3, p. 278-284, 2011.
- BACH, L. A. et al. Aminoguanidine ameliorates changes in the IGF system in experimental diabetic nephropathy. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Oxford, v. 15, n. 3, p. 347-354, 2000.
- BLOOM, C. A.; RAND, J. S. Diabetes and the kidney in human and veterinary medicine. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 43, n. 2, p. 351-365, 2013.
- BROWN, S. et al. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 21, n. 3, p. 542-558, 2007.
- CARAMORI, M. L.; PARKS, A.; MAUER, M. Renal lesions predict progression of diabetic nephropathy in type 1 diabetes. **Journal of the American Society of Nephrology**, Washington, v. 24, n. 7, p. 1175-1181, 2013.
- DOI, T. et al. Progressive glomerulosclerosis develops in transgenic mice chronically expressing growth hormone and growth releasing factor but not in those expressing insulin-like growth factor. **American Journal Pathology**, Philadelphia, v. 131, n. 3, p. 398-403, 1988.
- FARIA, J. B. L. Atualização em fisiologia e fisiopatologia: patogênese da nefropatia diabética. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 121-129, 2001.
- FERREIRA, S. R. G.; ZANELLA, M. T. Sistema renina-angiotensina-aldosterona e nefropatia diabética. **Revista Brasileira de Hipertensão**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 3, p. 268-274, 2000.
- FIORETTO, P. et al. An overview of renal pathology in insulin-dependent diabetes mellitus in relationship to altered glomerular hemodynamics. **American Journal Kidney Disease**, Philadelphia, v. 20, n. 6, p. 549-558, 1992.

- FLYVBJERG, A. Putative pathophysiological role of growth factors and cytokines in experimental diabetic kidney disease. **Diabetologia**, Berlin, v. 43, n. 10, p. 1205-1223, 2000.
- HERRING, I. P.; PANCIERA, D. L.; WERRE, S. R. Longitudinal prevalence of hypertension, proteinuria, and retinopathy in dogs with spontaneous diabetes mellitus. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 28, n. 2, p. 488-495, 2014.
- HESS, R. S. et al. Concurrent disorders in dogs with diabetes mellitus: 221 cases (1993-1998). **Journal of American Veterinary Medical Association**, Ithaca, v. 217, n. 8, p. 1166-1173, 2000.
- JEFFERSON, J. A.; SHANKLAND, S. J.; PICHLER, R. H. Proteinuria in diabetic kidney disease: a mechanistic viewpoint. **Kidney International**, New York, v. 74, n. 1, p. 22-36, 2008.
- JENSEN, P. K. et al. Strict metabolic control and renal function in the streptozotocin diabetic rat. **Kidney International**, New York, v. 31, n. 1, p. 47-51, 1987.
- KANG, J. et al. Glycogen accumulation in renal tubules, a key morphological change in the diabetic rat kidney. **Acta Diabetologica**, Berlin, v. 42, n. 2, p. 110-116, 2005.
- KERN, T. S.; ERGERMAN, R. L. Arrest of glomerulopathy in diabetic dogs by improved glycaemic control. **Diabetologia**, Berlin, v. 33, n. 9, p. 522-525, 1990.
- Khazim, K. et al. The antioxidant silybin prevents high glucose-induced oxidative stress and podocyte injury in vitro and in vivo. **American Journal of Physiology: Renal Physiology**, Bethesda, v. 305, n. 5, p. F691-F700, 2013.
- KIM, S. S. et al. Urinary cystatin C and tubular proteinuria predict progression of diabetic nephropathy. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 36, n. 3, p. 656-661, 2013.
- KOGIKA, M. M. et al. Microalbuminuria in dogs with diabetes mellitus. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lakewood, v. 21, n. 3, p. 647, 2007.
- LEE, C. S. et al. Renal transplantation in diabetes mellitus in the rat. **The Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 139, n. 4, p. 793-800, 1974.
- LEES, G. E. et al. Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (small animal). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lakewood, v. 19, n. 3, p. 377-385, 2005.
- LOPES-VIRELLA, M. F. et al. Early diagnosis of renal malfunction in diabetes. **Diabetologia**, Berlin, v. 16, n. 3, p. 165-171, 1979.
- MARTORELLI, C. R. et al. Sequential evaluation of proteinuria, albuminuria and urinary protein electrophoresis in dogs with diabetes mellitus. **Online Journal of Veterinary Research**, Queensland, v. 20, n. 8, p. 547-556, 2016.
- MAUER, S. M. Structural-functional correlations of diabetic nephropathy. **Kidney International**, New York, v. 45, n. 2, p. 612-622, 1994.
- MAZZI, A. et al. Ratio of urinary protein to creatinine and albumin to creatinine in dogs with diabetes mellitus and hyperadrenocorticism. **Veterinary Research Communication**, v. 32, p. 299-301, 2008. Supplement 1.
- MOGENSEN, C. E. Glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term and long-term juvenile diabetes mellitus. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, Oslo, v. 28, n. 1, p. 91-100, 1971.
- Moriya, T. et al. Glomerular hyperfiltration and increased glomerular filtration surface are associated with renal function decline in normo and microalbuminuric type 2 diabetes. **Kidney International**, New York, v. 81, n. 5, p. 486-493, 2012.
- MYERS, B. D. et al. Mechanisms of proteinuria in diabetic nephropathy: a study of glomerular barrier function. **Kidney International**, New York, v. 21, n. 4, p. 633-641, 1982.
- Nadarajah, R. et al. Podocyte-specific overexpression of human angiotensin-converting enzyme 2 attenuates diabetic nephropathy in mice. **Kidney International**, New York, v. 82, n. 3, p. 292-303, 2012.
- NAUTA, F. L. et al. Glomerular and tubular damage markers are elevated in patients with diabetes. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 34, n. 4, p. 975-981, 2011.
- NELSON, R. W. Canine diabetes mellitus. In: FELDMAN, E. C. et al. **Canine and feline endocrinology**. 4. ed. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 213-257.
- NIELSEN, S. E. et al. Tubular markers do not predict the decline in glomerular filtration rate in type 1 diabetic patients with overt nephropathy. **Kidney International**, New York, v. 79, n. 10, p. 1113-1118, 2011.
- OH, S. W. et al. Clinical implications of pathologic diagnosis and classification for diabetic nephropathy. **Diabetes Research and Clinical Practice**, Limerick, v. 97, n. 3, p. 418-424, 2012.
- Pourghasem, M.; Nasiri, E.; SHAFI, H. Early renal histological changes in alloxan-induced diabetic rats. **International Journal of Molecular and Cellular Medicine**, Babol, v. 3, n. 1, p. 11-15, 2014.
- RASCH, R. Prevention of diabetic glomerulopathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment. **Diabetologia**, Berlin, v. 16, n. 5, p. 319-324, 1979.
- ROSSING, P.; HOUGAARD, P.; PARVING, H. H. Risk factors for development of incipient and overt diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients: a 10-year prospective observational study. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 25, n. 5, p. 859-864, 2002.

- STEFFES, M. W. et al. Diabetic nephropathy in the uninephrectomized dog: microscopic lesions after one year. **Kidney International**, New York, v. 21, n. 5, p. 721-724, 1982.
- STOLAR, M. Glycemic control and complications in type 2 diabetes mellitus. **The American Journal of Medicine**, Alexandria, v. 123, p. S3-S11, 2010. Supplement 3.
- STRUBLE, A. L. et al. Systemic hypertension and proteinuria in dogs with diabetes mellitus. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 213, n. 6, p. 822-825, 1998.
- SUSZTAK, K. et al. Glucose-induced reactive oxygen species cause apoptosis of podocytes and podocyte depletion at the onset of diabetic nephropathy. **Diabetes**, Alexandria, v. 55, n. 1, p. 225-233, 2006.
- VORA, J. P.; ANDERSON, S.; BRENNER, B. M. Pathogenesis of diabetic glomerulopathy: the role of glomerular hemodynamic factors. In: MOGENSEN, C. F. **The kidney and hypertension in diabetes mellitus**. 2. ed. Boston: Kluwer Academic, 1994. p. 223-232.
- WARRAM, J. H. et al. Effect of duration of type I diabetes on the prevalence of stages of diabetic nephropathy defined by urinary albumin/creatinine ratio. **Journal of the American Society of Nephrology**, Baltimore, v. 7, n. 7, p. 930-937, 1996.
- ZATZ, R. et al. Predominance of hemodynamic rather than metabolic factors in the pathogenesis of diabetic glomerulopathy. In: **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 82, n. 17, p. 5963-5967, 1985.
- ZATZ, R. et al. Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension. **Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 77, n. 6, p. 1925-1930, 1986.

O contexto atual da pesquisa clínica nas indústrias e faculdades de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo, Brasil

The current context of clinical research in industries and schools of Veterinary Medicine in São Paulo State, Brazil

Resumo

O mercado farmacêutico veterinário do Brasil é considerado um dos maiores do mundo e está em expansão. A pesquisa clínica é uma etapa importante para o desenvolvimento de produtos veterinários, no entanto, informações sobre essas atividades nas indústrias, fazendas experimentais terceirizadas e faculdades de Medicina Veterinária são escassas. Neste contexto, são descritas as atividades de pesquisa clínica nessas instituições do Estado de São Paulo. Para tanto, foram enviados questionários a representantes das indústrias farmacêuticas veterinárias e das faculdades de Medicina Veterinária do Estado. Os resultados mostraram que a maioria das indústrias tem seus escritórios na cidade de São Paulo, que em 2016 a maioria delas patrocinou entre 11 e 20 estudos, muitos deles em parceria com as faculdades. Todas as indústrias participantes já contrataram serviços de *Contract Research Organization* (CRO), embora relatem insatisfações com os mesmos. Por outro lado, representantes das faculdades de Medicina Veterinária declararam, em sua maioria, que conduziram dez desses estudos no ano de 2016, muitos deles com patrocínio das indústrias. Já estas se ressentem da falta de agilidade e compromisso das faculdades. A aproximação entre as indústrias de produtos veterinários e as faculdades de Medicina Veterinária foi vista pelos representantes tanto das faculdades quanto das indústrias como benéfica.

Abstract

The Brazilian veterinary pharmaceutical market is considered one of the largest in the world and is in expansion. Clinical research is a crucial step in the development of veterinary products, however, information on these activities in industries, experimental farms and veterinary undergraduate courses are scarce. Given this context, this study intended to describe clinical research activities in these institutions in the state of São Paulo. For such, we sent a questionnaire to the representatives of pharmaceutical industries and institutions of veterinary medicine of the state. The results showed that the offices of most industries are located in the city of São Paulo. In 2016, most of these companies sponsored between 11 and 20 studies, many of them in partnership with departments of veterinary medicine. All industry participants contracted Contract Research Organization (CRO) services, despite reporting dissatisfaction with these services. On the other hand, most representatives from veterinary medicine courses reported that they performed 10 studies in 2016, many of them sponsored by industries. The industries resent the lack of agility and commitment of the institutions. The approximation between the veterinary industry and veterinary medicine courses was seen by representatives of both as beneficial.

Recebido em 25 de agosto de 2016 e aprovado em 27 de novembro de 2017.

Karina Negrelli¹

Tatiana Gotti¹

Norma Labarthe¹

Thais Sodré Machado¹

Regina Albanese²

Lucile Maria Floeter Winter¹

Denise Fantoni¹

Greyce Lousana^{3,4}

Rua Caramuru, 417, 11º andar, Sala 115, Chácara Inglesa
São Paulo/SP, CEP: 04138-001
✉ saudeanimal@sbppc.org.br



Palavras-chave

Pesquisa e desenvolvimento. Ensaios clínicos.
Contract Research Organization. CRO.

Keywords

Research and development. Biological assay.
Contract Research Organization. CRO.

O mercado veterinário no Brasil se encontra em franca expansão. Os alicerces desse crescimento são a ameaça das zoonoses, o aumento do interesse da população sobre a segurança alimentar e seu consequente aumento do rigor do arcabouço regulatório e o crescimento da população de animais de companhia no País (CAPANEMA et al., 2007).

A pesquisa clínica é uma etapa importante da pesquisa e do desenvolvimento (P&D) de um produto veterinário e deve sempre incluir apenas indivíduos da espécie alvo (BARRETO, 2013). Ainda que a Lei nº 11.794/2008 estabeleça que é obrigatório o credenciamento das instituições que produzem, mantêm ou utilizam animais em atividades de pesquisa ou de ensino junto ao Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) (BRASIL, 2008), as informações pertinentes a essas atividades não são compiladas ou publicadas pelo Conselho.

As faculdades de Medicina Veterinária podem conduzir projetos de P&D patrocinados por indústrias ou por agências de fomento e assim contribuir com a inovação e com a capacitação de novos profissionais. Entretanto, a situação econômica do Brasil contingenciou as verbas provenientes das agências de fomento, comprometendo a formação acadêmica. No final de março de 2017, o orçamento de custeio e investimento do MCTIC foi 44% menor

¹ Sociedade Brasileira de Profissionais em Pesquisa Clínica, Comissão de Saúde Animal – São Paulo, São Paulo, Brasil.

² Conselho Regional de Estatística – São Paulo, São Paulo, Brasil.

³ Sociedade Brasileira de Profissionais em Pesquisa Clínica – São Paulo, São Paulo, Brasil.

⁴ Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo, Comissão de Animais de Experimentação de Ensino e Pesquisa – São Paulo, São Paulo, Brasil.

do que o estabelecido na lei orçamentária, repercutindo sobre toda a comunidade científica. Caso tais recentes cortes não sejam revertidos, a participação do Ministério no dispêndio nacional em P&D deve cair do patamar de 0,1% do PIB (Produto Interno Bruto), observado nos últimos três anos, para um índice próximo a 0,07% do PIB neste ano (MARQUES, 2017). Dessa forma, as instituições de ensino superior precisam vislumbrar o patrocínio privado como uma oportunidade para mitigar o impacto sofrido pela restrição de verbas (SUSPENSÃO..., 2016).

Este estudo identifica e relata a situação da pesquisa clínica veterinária no Estado de São Paulo a fim de estimular mudanças em níveis comerciais, acadêmicos e regulatórios.

Material e métodos

Foi utilizada metodologia descritiva exploratória mista, contemplando características qualitativas e quantitativas (CRESWELL, 2007), seguindo o protocolo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE 62995416.2.0000.8098). O projeto foi desenvolvido com o emprego de um questionário autoadministrado aplicado online. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) elaborado em respeito às diretrizes éticas nacionais (estabelecidas pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa) e internacionais (GCP-ICH) também foi autoadministrado; a plataforma de coleta de dados foi configurada pela equipe de pesquisa de forma que apenas os participantes que consentissem participar (clcando na opção “sim, aceito participar”) teriam acesso à primeira questão. Ao clicar na opção “não aceito participar” e “avançar”, o convidado era direcionado à página de finalização do questionário, sem possibilidade de acessá-lo novamente. A funcionalidade desta configuração foi verificada antes do início do recrutamento de participantes, e todos os dados coletados foram provenientes daqueles que concordaram em participar após a leitura do TCLE.

O recrutamento foi direcionado a representantes dos setores de Assuntos Regulatórios ou de P&D das 54 indústrias constantes no cadastro do Estado de São Paulo do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para a Saúde Animal (LISTA..., 2016a). Destas, 48 empresas foram convidadas, resultando em treze participantes dessa população. O recrutamento das faculdades de Medicina Veterinária foi direcionado às 43 instituições cadastradas no portal do Conselho Federal de Medicina Veterinária, localizadas no Estado de São Paulo (LISTA..., 2016b). Destas, 22 instituições foram convidadas, resultando em seis participantes.

Os recursos utilizados para a coleta de dados foram dois questionários distintos (um aplicado para as indústrias e outro para as faculdades), on-line e auto-administrados, desenvolvidos por consenso descrito por Norcini et al. (2011), compostos por 30 e 13 questões respectivamente, elaborados com fluxos variáveis na dependência da resposta de cada participante.

A contabilização das fazendas experimentais existentes no Brasil foi obtida nos portais oficiais do CONCEA e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Resultados e discussão

A maior parte das indústrias estava localizada na cidade de São Paulo (30,76% – 4/13), duas delas em Paulínia (15,41%) e as demais dispersas, uma em cada cidade (Arujá, Batatais, Cravinhos, Descalvado, Jaguariúna, Louveira e Valinhos). A maioria das indústrias desenvolve seus estudos clínicos no Estado de São Paulo (61,54%), seguido pelo de Minas Gerais (23,08%) e pelo de Espírito Santo (7,69%). Apenas uma não respondeu. Em 2016 o número de estudos clínicos que elas conduziam, embora variável, demonstra que o setor resistiu à crise econômica (Gráfico 1). Apenas uma das empresas possui fazenda experimental, no Estado de São Paulo, onde conduz estudos clínicos com bovinos, suínos, equinos e aves. Não foram obtidas informações sobre fazendas experimentais nos portais eletrônicos do CONCEA ou do MAPA.

Apesar de uma indústria ter sua própria instalação para estudos clínicos, todas declararam contratar *Contract Research Organization* (CRO). A opinião sobre o atendimento às necessidades da indústria pelas CROs é divergente, tanto que metade das indústrias declarou acreditar que as CROs atendem às suas necessidades, enquanto a outra metade declarou o oposto; uma indústria não soube responder. O número de CROs existentes no País foi considerado insuficiente por nove indústrias (69,23%); 23,08% delas responderam que é suficiente e uma não soube responder. Não foram encontradas informações oficiais sobre CROs nos portais eletrônicos do CONCEA ou do MAPA.

O sistema de gestão da qualidade foi o quesito das CROs com pior avaliação (“ruim” – 23,08%) e os “profissionais veterinários” foi o melhor avaliado (“bom” – 53,83%) (Gráfico 2). Os erros de anotação nos formulários de captura de dados foim o problema que compromete a qualidade dos serviços prestados pelas CROs mais apontado (Gráfico 3), impactando negativamente sobre as exigências regulatórias oficiais aplicáveis (BRASIL, 2009b).

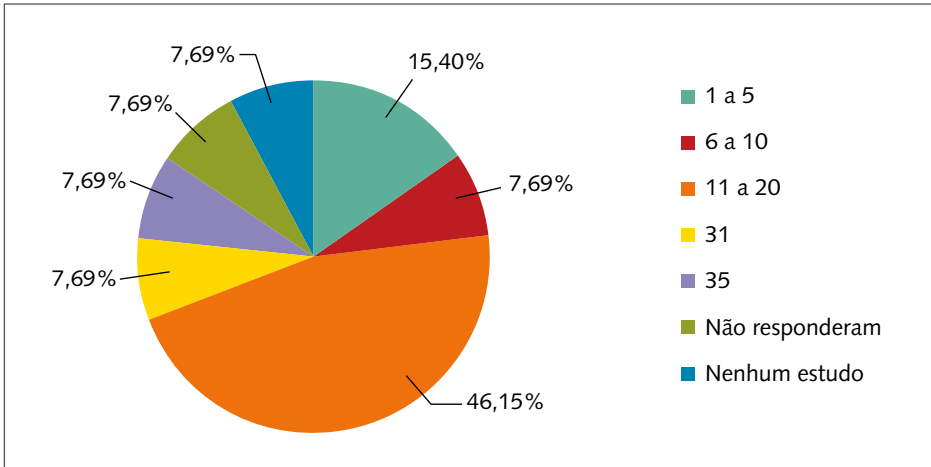


Gráfico 1 - Número de estudos clínicos por indústrias de produtos veterinários participantes durante 2016. Fonte: Arquivo pessoal.

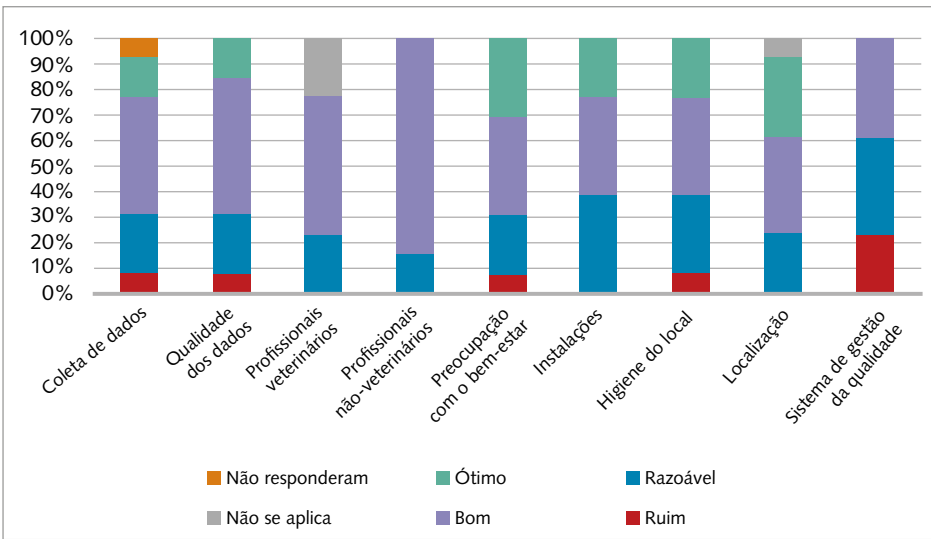


Gráfico 2 - Avaliação das indústrias de produtos veterinários sobre as Contract Research Organizations (CROs). Fonte: Arquivo pessoal.

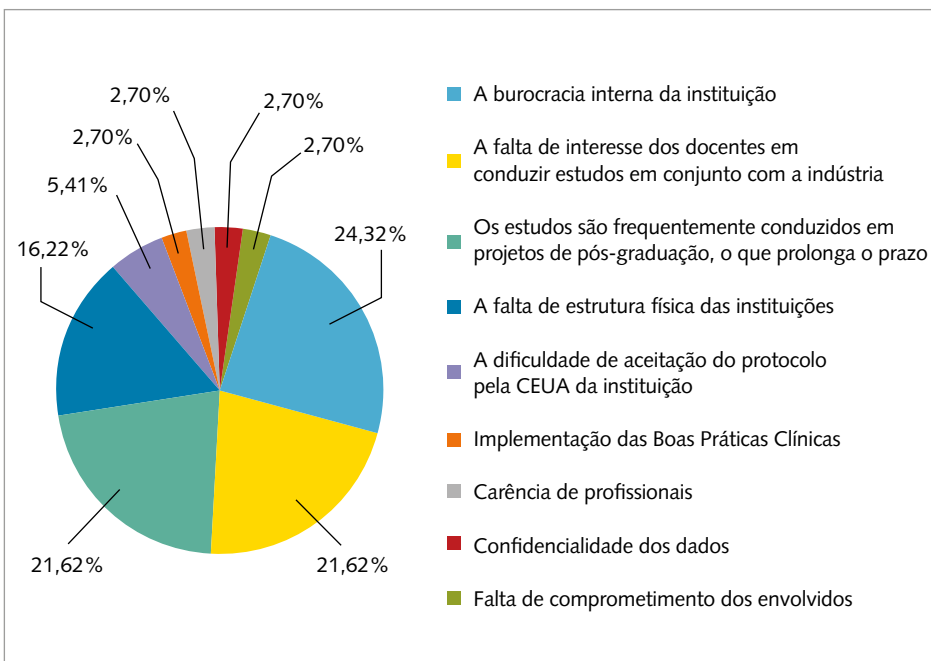


Gráfico 3 - Problemas que comprometem os serviços prestados pelas Contract Research Organizations (CROs) na visão das indústrias de produtos veterinários. Fonte: Arquivo pessoal.

Os achados sugerem ausência de um sistema de gestão da qualidade eficiente, comprometendo os resultados e conseqüentemente o valor científico do estudo. Assim, parece urgente que o acompanhamento dos estudos clínicos veterinários exercido pelo MAPA se espelhe no modelo já implantado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que verifica quesitos referentes ao sistema de garantia da qualidade durante as inspeções em Boas Práticas Clínicas (BPC) nos centros de pesquisa (BRASIL, 2009a). Não foram encontradas informações oficiais sobre implementação de sistemas de gestão da qualidade nas CROs veterinárias nos portais eletrônicos do CONCEA ou do MAPA.

Dentre os representantes das indústrias, a maior parte (76,92%) afirmou que a indústria onde atuam conduzia estudos clínicos em conjunto com faculdades de Medicina Veterinária. Desses estudos, 90% se davam em instituições públicas e 10% em instituições privadas. A preferência por instituições públicas se dá pela maior

credibilidade conferida aos resultados, de acordo com 53,85% das respostas, enquanto 38,46% acreditam que não há diferenças e 7,69% não responderam. As maiores barreiras apontadas para a condução desses estudos nas instituições de ensino foram a burocracia interna (24,32%), a falta de interesse dos docentes e a condução dos estudos em projetos de pós-graduandos (Gráfico 4).

A totalidade dos representantes das indústrias afirmou que os estudos clínicos são monitorados de forma condizente às BPC (BRASIL, 2009b); entretanto, a realização de auditorias foi afirmada por apenas 61,54% dos participantes. Há de se considerar que auditorias são necessárias para a avaliação do cumprimento dos protocolos, dos Procedimentos Operacionais Padrão, da aderência às BPC e das exigências regulatórias aplicáveis de forma independente da monitoria de rotina (BRASIL, 2009b). Assim, sugere-se que as atividades de auditorias sejam realizadas com maior frequência e que, para tanto, haja maior rigor na fiscalização pelos órgãos competentes.

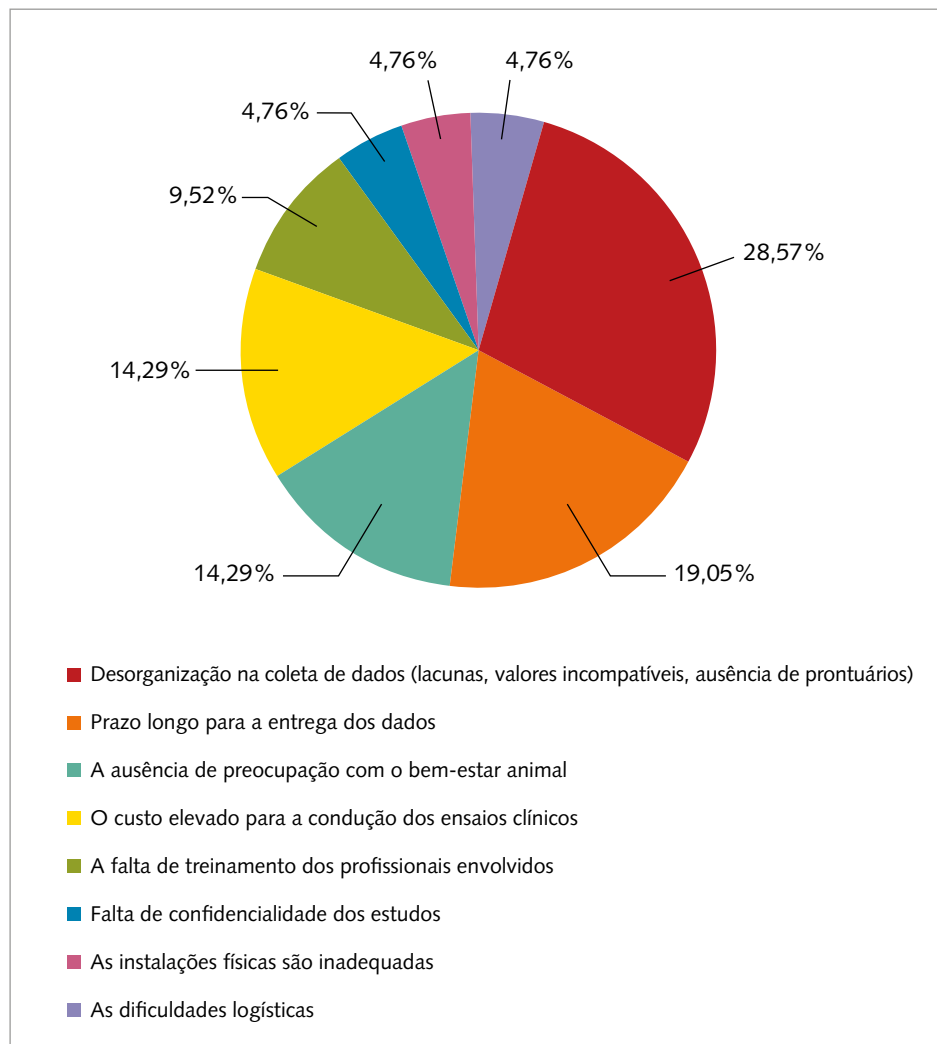


Gráfico 4 - Dificuldades encontradas pelas indústrias de produtos veterinários para patrocinar estudos clínicos nas faculdades de medicina veterinária. Fonte: Arquivo pessoal.

Das seis faculdades participantes, duas eram de Araçatuba e uma em cada uma das outras cidades (Bragança Paulista, Descalvado, Ribeirão Preto e São Paulo). A maioria das faculdades realizou até 10 estudos (83,33%), e as demais, entre 21 e 30 estudos. Dos coordenadores de curso entrevistados, cinco (83,33%) declararam que a instituição conduz estudos clínicos patrocinados por indústrias; destes, três (60%) declararam de um a cinco estudos clínicos no ano de 2016, um (20%) de seis a dez estudos no mesmo período e um (20%) não soube responder. A espécie canina foi a mais utilizada (80% dos participantes – 4/5) pelas faculdades, seguida pela espécie bovina (60% – 3/5); e felinos, equinos, peixes e roedores foram citados uma única vez cada, totalizando 20%. A utilização de espécies animais de companhia acompanha o crescimento anual do número destes no país, que chega a 8% (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INDÚSTRIAS DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2016) e o expressivo número de bovinos utilizados parece refletir a importância do comércio de carne bovina para o Brasil, que possui o segundo maior rebanho bovino do mundo (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2015).

A totalidade dos participantes afirmou que metodologia científica é exigência na grade curricular da instituição para graduandos e que discentes de programas de iniciação científica recebem orientação sobre as BPC e sobre a regulamentação ética no uso de animais em pesquisa; entretanto, apenas 83,33% das instituições afirmaram que os pós-graduandos recebem as mesmas orientações. Embora as diretrizes de BPC devam ser seguidas por todo e qualquer estudo clínico, seu ensino não é obrigatório, o que pode comprometer a qualidade dos dados coletados pelas faculdades. Embora a qualidade de um estudo clínico dependa do cuidado com todas as etapas (desenho, plano estatístico, dentre outros), os esforços também devem se concentrar na formação dos discentes das instituições (OYAMA; ELLENBERG; SHAW, 2017).

A condução de estudos clínicos em atividades de cooperação mútua (indústrias e faculdades) desperta o interesse de parte a parte dentre os que responderam a este estudo e que ainda não desenvolvem tais atividades, que salientaram também, de maneira interessante, que estas seriam mais facilitadas caso fossem mais procurados pelo outro setor. Entretanto, de acordo com os resultados, as indústrias procuram as instituições de ensino na maior parte dos casos (60%). Diante do panorama econômico atual, a aproximação das instituições de ensino com as indústrias poderá suavizar o impacto

sofrido pela pesquisa (SUSPENSÃO..., 2016) e gerar novas possibilidades de aprendizado para os discentes. Entretanto, a indispensável independência de todos os atores precisará ser preservada.

Conclusões

Apesar deste estudo apresentar limitações pelo tamanho amostral selecionado, foi observado que para a condução de suas pesquisas clínicas as indústrias se utilizam dos serviços de CROs e de faculdades, entretanto falhas apontadas nestas instituições comprometem a qualidade dos resultados. Às CROs faltam sistemas de gestão da qualidade eficientes e organização na coleta de dados, e às faculdades faltam agilidade, interesse por parte dos docentes e compromisso com os prazos acordados. A aproximação entre as indústrias de produtos veterinários e as faculdades de medicina veterinária foi vista pelos representantes das instituições como benéfica. ☺

Referências

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INDÚSTRIAS DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO. **População de animais no Brasil**. Brasília, DF: Abinpet, 2014. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_tematicas/Insumos_agropecuarios/79RO/IBGE_PAEB.pdf>. Acesso em: 19 nov. 2016.
- AZEVEDO, D. C. V. **Desenvolvimento de um programa de qualidade nos centros de pesquisa clínica da Rede Nacional de Pesquisa Clínica em Câncer: estratégia inovadora para fortalecer a condução dos estudos clínicos**. 2013. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, 2013.
- BARRETO, W. D. **Processo de desenvolvimento de fármacos veterinários**. 2013. 48 f. Monografia (Graduação em Engenharia Bioquímica) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2013. Disponível em: <<https://sistemas.eel.usp.br/bibliotecas/monografias/2013/MBI13003.pdf>>. Acesso em: 27 jun. 2017.
- BRASIL. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Legislativo, Brasília, DF, 9 out. 2008. Seção 1, p. 1.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 4, de 11 de maio de 2009. Dispõe sobre o Guia de Inspeção em Boas Práticas Clínicas. **Diário Oficial da União**, Poder Legislativo, Brasília, DF, 12 maio 2009a. Seção 1, p. 173-175.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Guia I: boas práticas clínicas (BPC)**. São Paulo: Apamvet, 2009b. Disponível em: <<https://www.apamvet.com/manual.pdf>>. Acesso em: 26 jun. 2017.

CAPANEMA, L. X. L. et al. Panorama da indústria farmacêutica veterinária. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 25, p. 157-173, mar. 2007. Disponível em: <[https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/2530/1/BS%2025%20Panorama %20 da%20Ind%C3%BAstria%20Farmac%C3%AAutica%20 Veterin%C3%A1ria_P.pdf](https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/2530/1/BS%2025%20Panorama%20da%20Ind%C3%BAstria%20Farmac%C3%AAutica%20Veterin%C3%A1ria_P.pdf)>. Acesso em: 23 nov. 2016.

CRESWELL, J. W. **Projeto de pesquisa**: métodos qualitativo, quantitativo e misto. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 248 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Número estimado de animais de produção em 2015**. Rio de Janeiro: Sistema IBGE de Recuperação Automática. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=3939&z=p&o=29&i=P>>. Acesso em: 19 nov. 2016.

LISTA de associados do estado de São Paulo.. São Paulo: SINDAN, 2016a. Disponível em: <<http://www.sindan.org.br/sd/associados.aspx>>. Acesso em: 25 nov. 2016.

LISTA de instituições de ensino superior veterinário do estado de São Paulo. Brasília, DF: CFMV, 2016b. Disponível em: <http://www.cfmv.gov.br/porta/ensino_frm_exibir_opcao.php>. Acesso em: 13 nov. 2016.

MARQUES, F. Financiamento em crise. **Pesquisa FAPESP**, São Paulo, n. 256, p. 20-29, jun. 2017. Disponível em: <http://revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2017/06/020_financiamento_256.pdf>. Acesso em: 2 out. 2017.

NORCINI, J. et al. Criteria for good assessment: consensus statement and recommendations from the Ottawa 2010 Conference. **Medical Teacher**, London, v. 33, n. 3, p. 206-214, 2011.

OYAMA, M. A.; ELLENBERG, S. S.; SHAW, P. A. Clinical trials in veterinary medicine: a new era brings new challenges. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 31, n. 4, p. 970-978, 2017. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jvim.14744/full>>. Acesso em: 27 jun. 2017.

SUSPENSÃO de recursos para ciência e tecnologia põe em risco futuro do país, dizem gestores universitários. **Agência Senado**, Brasília, DF, 8 nov. 2016. Disponível em: <<http://www12.senado.leg.br/noticias/materias/2016/11/08/suspensao-de-recursospara-ciencia-e-tecnologia-poe-em-risco-futuro-do-pais-dizem-gestoresuniversitarios>>. Acesso em: 19 nov. 2016.

Questões econômicas e gerenciais envolvidas na adoção e manutenção de sistemas de integração lavoura-pecuária

Economic and management issues involved in the adoption and maintenance of integrated crop-livestock systems

Resumo

Os profissionais envolvidos nas cadeias de produção animal e vegetal se deparam com um cenário atual de contradições. De um lado, o aumento pela demanda de alimentos, de outro, as pressões sociais que questionam o modo como é conduzida a produção. Neste contexto, os sistemas integrados podem ser uma importante estratégia. A integração lavoura-pecuária (ILP) consiste na implantação de diferentes sistemas produtivos para a produção animal e vegetal na mesma área, em plantio consorciado, sequencial ou rotacional. Os benefícios mais divulgados em relação aos sistemas de ILP são os agrônômicos ou produtivos, que são consequência da melhoria da qualidade do solo e maior controle de pragas. Contudo, para que os sistemas de ILP sejam adotados em escala comercial, representando de fato uma alternativa para a produção de alimentos, é necessário que a ciência aborde também questões econômicas e gerenciais envolvidas na adoção e manutenção dos sistemas de ILP.

Abstract

Professionals involved in animal and plant production chains are currently confronted with a scenario of contradictions. There is a growing demand for food, on the other hand, social pressures question how food is produced. Within this context, integrated production systems could be an important strategy. Integrated crop-livestock systems (ICL) consists of the implementation of different systems for animal and agricultural production in the same area, planted concurrently, sequentially or in rotation. The most reported advantages of ICL systems are agronomic or productive benefits, which are the result of improved soil quality and better pest control. However, to implement ICL systems on large scale, representing an actual alternative for food production, scientific research must address the economic and management issues involved in the adoption and maintenance of these systems.

Recebido em 16 de maio de 2017 e aprovado em 27 de novembro de 2017.

Gabriela Geraldi Mendonça¹

Jeferson Garcia Augusto²

Pedro Miele Bonacim²

Leonardo Sartori Menegatto²

Flávia Fernanda Simili²

Augusto Hauber Gameiro¹

Avenida Segismundo Mangoline, 316, Jardim Boa Vista,
Guariba/SP, CEP: 14840-000
✉ gabigeraldi@hotmail.com



Palavras-chave

Planejamento agropecuário.
Produção de alimentos. Sistemas alternativos.

Keywords

Agricultural planning. Food production.
Alternative systems.

Em meados da década de 1960, no contexto mundial da Revolução Verde, o aumento da produtividade de culturas vegetais e animais no Brasil e no mundo foi pautado na especialização dos sistemas produtivos (monocultivo). A alteração genética de sementes e alimentos, a utilização de energias não renováveis e o intenso uso de máquinas e implementos agrícolas, bem como de fórmulas químicas para aplicação de nutrientes e combate a pragas, foram estratégias para o aumento da produtividade agropecuária.

O equilíbrio entre demanda crescente por alimentos e conservação de recursos é um dos maiores desafios enfrentados pela sociedade atualmente (ANSELL et al., 2016). Surge a necessidade, portanto, de que atores relevantes neste cenário, como instituições de pesquisa, iniciativa privada e serviços de extensão, definam estratégias e validem alternativas para esse contexto.

Neste cenário, sistemas de integração lavoura-pecuária (ILP) apresentam um delineamento promissor para sistemas produtivos que devem racionalizar recursos naturais sem perder eficiência, assegurando o incremento da produção agropecuária, otimizando o uso de áreas agricultáveis, permitindo o aproveitamento de tecnologias e promovendo melhorias das características do solo.

¹ Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Nutrição e Produção Animal – Pirassununga, São Paulo, Brasil.

² Agência Paulista de Tecnologia de Agronegócios, Instituto de Zootecnia, Centro de Pesquisa em Bovino de Corte – São Paulo, São Paulo, Brasil.

Macedo (2009) refere que a ILP consiste na implantação de diferentes sistemas produtivos de grãos, fibras, carne, leite e agroenergia na mesma área, em plantio consorciado, sequencial ou rotacional, objetivando efeitos sinérgicos entre os componentes do agroecossistema.

Os benefícios mais citados dos sistemas de ILP são: melhoria dos atributos físicos, químicos e biológicos do solo, ciclagem de nutrientes entre as culturas, acúmulo de matéria orgânica, diminuição do risco de pragas e plantas invasoras e possível mitigação de gases do efeito estufa (LEMAIRE et al., 2014; SALTON et al., 2014). Tais benefícios são imprescindíveis para que a produtividade das culturas seja competitiva quando comparada aos sistemas de monocultivo.

Postula-se a hipótese de que a divulgação apenas dos benefícios biológicos e produtivos não é suficiente para encorajar a mudança, sendo necessária a difusão de mais informações, do ponto de vista econômico e gerencial, que subsidiem a tomada de decisão do produtor rural. Explorar a diversidade de combinações entre espécies vegetais e animais e as possíveis estratégias de rotação, sucessão ou consórcio, conseguindo quantificar custos e receitas, parece ser um passo importante para que os sistemas de ILP se consolidem no cenário produtivo brasileiro.

As experiências compartilhadas neste ensaio são baseadas em um protejo chamado “Impacto ambiental, produtividade e viabilidade econômica de sistemas de monocultivo e integrado de lavoura-pecuária”, financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp). Trata-se da implantação de sistemas de ILP de milho-grão e capim-marandu desenvolvidos no Centro Avançado de Pesquisa em Bovinos de Corte de Sertãozinho, pertencente ao Instituto de Zootecnia da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios.

O objetivo deste ensaio é descrever aspectos econômicos dos sistemas de ILP e eventuais entraves para sua adoção.

Aspectos econômicos de sistemas de ILP

Martha Júnior, Alves e Contini (2011) destacam que o principal questionamento a ser levantado é se, após os benefícios biológicos e produtivos obtidos pelos sistemas integrados, os ganhos econômicos levam à tomada de decisão para a especialização dos sistemas agropecuários ou para sua diversificação. Os benefícios econômicos potenciais dos sistemas integrados, citados na literatura, são a economia de escopo e a redução de risco pela diversificação.

Gao e Featherstone (2008) referem que a economia de escopo reflete a redução no custo unitário, quando mais de um produto é produzido por uma mesma empresa. Extrapolando a questão conceitual, é necessário entender

como exatamente funciona a economia de escopo, identificando as fontes que permitem que os custos unitários de produção sejam reduzidos dentro dos sistemas integrados. Uma das principais hipóteses acerca das fontes da economia de escopo é a existência de insumos compartilháveis entre as culturas integradas, sendo os mais citados: infraestrutura, maquinários e implementos, mão de obra e benefícios agronômicos e ambientais obtidos a partir da integração das culturas (GAMEIRO; ROCCO; CAIXETA FILHO, 2016).

A terra, ou seja, a área utilizada para a produção, será compartilhada, já que esse é um dos princípios dos sistemas de ILP. Galpões e demais estruturas físicas necessárias para abrigar insumos também podem ser utilizadas em ambas as culturas. Caso se opte por armazenar grãos na fazenda, estruturas de armazenamento, como silos, talvez exijam maior especificidade.

O maquinário também pode ser um tipo de insumo compartilhado, a depender das culturas integradas. De maneira genérica, tratores e implementos para aplicação de produtos fitossanitários e adubos serão semelhantes em propriedades destinadas à produção vegetal ou animal. O maquinário destinado ao plantio das culturas é um item mais específico, havendo opção, entretanto, de que um mesmo implemento seja utilizado em duas culturas. Por exemplo, no caso de sistemas de ILP que visam o plantio da cultura de milho e de capim, existem implementos que tornam possível a implantação simultânea de ambas as culturas.

Adicionalmente, a mão de obra também pode ser encarada como um insumo compartilhável dentro de um sistema que integre lavoura e pecuária, desde que esforços sejam despendidos para isso. A mão de obra destinada às culturas vegetais, em geral, é mais especializada, acostumada a lidar rotineiramente com tecnologia e prazos. Já os profissionais responsáveis da pecuária extensiva apresentam menor domínio de recursos tecnológicos, uma vez que os animais de tração, como cavalos, são sua principal “ferramenta” de trabalho. Assim, é possível que haja certa resistência inicial dos profissionais responsáveis pelo monocultivo vegetal ou animal em dedicar-se aos sistemas integrados, sendo necessária, portanto, sua capacitação para ambos os sistemas.

Entretanto, utilizando os exemplos acima citados, torna-se intuitiva a afirmação de que instalações físicas, maquinários e mão de obra podem ser compartilhados até determinados limites, que se referem principalmente à quantidade produzida e ao tamanho do sistema de produção. Isso justifica a necessidade de maiores estudos do ponto de vista econômico, mais precisamente de como a economia de escopo se relaciona diretamente aos sistemas integrados.



Figura 1 - Sistema de monocultivo de milho para produção de grão.
Fonte: Acervo do autor.



Figura 2 - Sistema integrado: capim-marandu crescendo na entrelinha do milho.
Fonte: Acervo do autor.

A diversificação representa um dos recursos mais citados na literatura acadêmica e técnica para a “proteção” contra riscos nas empresas rurais, representando um tipo de autonomia diante das vulnerabilidades do setor primário. Ao assumir uma nova cultura em um sistema de produção, a empresa rural busca se prevenir de riscos representados pelo monocultivo (COIMBRA; PERINA; FAUSTO, 2015), que são, principalmente, questões climáticas desfavoráveis ou pragas que comprometam a produção e preços desfavoráveis ou flutuações no mercado de *commodities*. Além disso, o maior número de culturas diminui as variações da renda líquida anual

da propriedade, o que reduz o impacto econômico pelo surgimento de crises no setor.

Para que a diversificação seja de fato estratégica, o que se espera é que tanto características intrínsecas das culturas produzidas – como condições climáticas, pragas e doenças e demais fatores que interfiram na produtividade – quanto características extrínsecas – como volatilidade de preços de mercado – sejam influenciadas de maneiras distintas. Assim, caso algum fator prejudique a produção ou venda de um dos produtos, espera-se que o outro seja fonte de receita, protegendo o produtor de prejuízos financeiros.



Figura 3 - Sistema integrado: após a colheita do milho, é hora de esperar a formação do pasto, para a entrada dos animais no sistema.
Fonte: Acervo do autor.

Considerações acerca dos entraves para a adoção dos sistemas de ILP

A opção entre as modalidades de integração dependerá de fatores externos – como padrões climáticos, preços de mercado, estabilidade política, evolução tecnológica –, bem como de fatores internos – como características do solo e recursos naturais disponíveis. As diversas possibilidades de combinações de espécies forrageiras, culturas anuais e arranjos estruturais determinarão as interações entre os componentes e o manejo específico nos sistemas de ILP. Logo, pode-se concluir que, embora a vasta opção em termos de culturas a serem integradas seja um ponto positivo, há a dificuldade de se conseguir abordar e administrar os diversos tipos de delineamentos possíveis para um sistema de produção integrado.

Migrar de sistemas de monocultura para sistemas integrados exige mão de obra capacitada, domínio de novas tecnologias e investimentos em infraestrutura, bem como capacidade gerencial e conhecimento de novos tipos de mercado. Existem restrições estruturais e tecnológicas para que empresas rurais especializadas no monocultivo passem a atuar em sistemas integrados. A maior demanda por capital e para a aquisição e/ou manutenção de animais – uma vez que os sistemas integrados exigem taxas de lotação elevadas e insumos associados aos dois produtos finais – pode ser citada como principal restrição, do ponto de vista econômico, para a ampla adoção dos sistemas integrados. As dimensões continentais do país não podem ser ignoradas, ou seja, é importante que a investigação acerca

dos sistemas integrados seja geograficamente ampla a fim de demonstrar aspectos positivos e negativos dessa adoção em diferentes regiões produtoras.

Antes de pensar no que é necessário para a adoção de um sistema integrado, é preciso levar em consideração que há dois tipos de visões possíveis para essa discussão: a visão do agricultor e a visão do pecuarista. Os agricultores estão mais habituados, em sua rotina, com a utilização de tecnologias, como maquinários modernos, bem como com o gerenciamento de informações cruciais para seu negócio e com preços de *commodities* no mercado interno e externo. Já os pecuaristas, de maneira geral, estão habituados a práticas mais extensivas, com utilização restrita de maquinário e mão de obra.

No caso de um agricultor que desejasse integrar a pecuária em seu sistema produtivo, a primeira decisão seria quanto ao objetivo a ser atingido. Considerando a escolha pela pecuária de corte, a próxima decisão seria a categoria animal, considerando vantagens e facilidades do mercado regional (compra e venda de insumos e produto final, por exemplo). Há indícios de que a recria é a categoria animal mais fácil para quem inicia a atividade (ALMEIDA, et al., 2015).

O aspecto da mão de obra também deve ser considerado. Seria necessário pessoal habilitado à montaria, bem como alguém capacitado para orientações sobre manejo de pastagens e manejo animal. A infraestrutura da propriedade também precisaria ser alterada, com a construção de cercas, reservatórios de água, cochos e curral para manejo.



Figura 4 - Pastejo de verão em um sistema integrado. Fonte: Acervo do autor.



Figura 5 - Pastejo de inverno em um sistema integrado.
Fonte: Acervo do autor.

As mudanças acima citadas podem parecer, a princípio, de difícil execução, contudo, quando comparadas ao aspecto gerencial, serão mais facilmente quantificadas. Possivelmente, o planejamento, a organização e a administração (das finanças e dos recursos físicos, naturais e pessoais disponíveis) representarão um entrave – dificilmente mensurável – para a adoção de sistemas de ILP, visto que o aspecto gerencial varia entre os sistemas de produção, dependendo do nível tecnológico e organizacional com o qual já se lida dentro da empresa rural.

Antes mesmo de implantar o sistema integrado, o produtor rural deve ter conhecimento de mercado. Por exemplo, o pecuarista terá que decidir qual cultura vegetal produzirá com base no objetivo que deseja atingir. No caso de se optar pelo milho, a pergunta é se a produção será destinada para grãos ou silagem. A opção de produzir silagem para alimentação animal na época das secas pode parecer promissora, desde que haja um planejamento em relação ao armazenamento desse produto e possíveis compras no caso de falta ou problemas na produção. Outra questão é decidir se a implantação da cultura vegetal acontecerá em apenas uma safra, com o objetivo de reformar o pasto, e, conseqüentemente, quantos anos durará a condução da pecuária. Ou, ainda, se a produção do grão acontecerá na safra e safrinha, para que depois os animais sejam inseridos no sistema.

O planejamento deve ser constante, baseado nas tomadas de decisão a curto, médio e longo prazo. Por exemplo, caso a pecuária seja inserida no sistema, logo após a colheita

da cultura vegetal, cercas, bebedouros e cochos devem ser implantados em tempo hábil. Nesse período, ações como a realização de amostragem de solo para tomada de decisão quanto a adubação e/ou técnicas de preparo do solo, ou tomada de decisão por sistema de plantio direto ou convencional, também farão parte da rotina, exigindo planejamento.

Inevitavelmente, conhecimentos sobre gestão financeira precisam fazer parte da rotina do produtor que decide assumir uma nova atividade em sua propriedade. Conseguir se organizar em relação aos custos e retornos de cada atividade, de maneira separada, facilitará a alocação de recursos e possibilitará afirmações acerca dos lucros e investimentos futuros.

Considerações finais

É necessário que pesquisas na área de sistemas de ILP sejam desenvolvidas por equipes multidisciplinares, capazes de demonstrar os benefícios e entraves da adoção e manutenção desse tipo de sistema de acordo com diferentes óticas (produtiva, ambiental, econômica e social).

A compreensão das teorias que podem embasar os possíveis resultados positivos dos sistemas de ILP em comparação ao monocultivo, bem como a abordagem dos entraves na adoção e manutenção desse tipo de sistema, se faz essencial. Dessa maneira, será possível enriquecer a discussão acerca da competitividade de sistemas de ILP, subsidiando a tomada de decisão e a adoção desse tipo de sistema em escalas comerciais. ®

Referências

- ALMEIDA, R. G.; PEREIRA, M. A.; KICHEL, A. N.; COSTA, F. P. Planejamento e gestão de sistemas pecuários integrados com agricultura. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PRODUÇÃO DE RUMINANTES NO CERRADO, 3., 2015, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: UFU, 2015. Disponível em: <<http://bit.ly/2paa3Ff>>. Acesso em: 3 fev. 2017.
- ANSELL, D.; FREUDENBERGER, D.; MUNRO, N.; GIBBONS, P. The cost-effectiveness of agri-environment schemes for biodiversity conservation: a quantitative review. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 225, p. 184-191, 2016.
- COIMBRA, C. H. G.; PERINA, R. A.; FAUSTO, D. A. Análise econômica de um sistema de integração lavoura-pecuária. **IPecege**, Piracicaba, v. 1, n. 1, p. 63-80, 2015.
- GAMEIRO, A. H.; ROCCO, C. D.; CAIXETA FILHO, J. V. Linear programming in the economic estimate of livestock-crop integration: application to a Brazilian dairy farm. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 45, n. 4, 181-189, 2016.
- GAO, Z.; FEATHERSTONE, A. M. Estimating economies of scope using profit function: a dual approach for the normalized quadratic profit function. **Economic Letters**, Amsterdam, v. 100, n. 3, p. 418-421, 2008.
- LEMAIRE, G.; FRANZLUEBBERS, A.; CARVALHO, P. C. F.; DEDIEU, B. Integrated crop-livestock systems: strategies to achieve synergy between agricultural production and environmental quality. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 190, p. 4-8, 2014.
- MACEDO, M. C. M. Integração lavoura-pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 28, n. esp., p. 133-146, 2009.
- MARTHA JÚNIOR, G.B.; ALVES, E.R. de A.; CONTINI, E. Dimensão econômica de sistemas de integração lavoura-pecuária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 46, n. 10 p. 1117-1126, 2011.
- SALTON, J. C.; MERCANTE, F. M.; TOMAZI, M.; ZANATTA, J. A.; CONCENÇO, G.; SILVA, W. M.; RETORE, M. Integrated crop-livestock system in tropical Brazil: Toward a sustainable production system. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 190, p. 70-79, 2014.





**I SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE
MEDICINA VETERINÁRIA LEGAL**

I SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA LEGAL

19 a 21 de maio de 2017

Casa da Arte, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus Botucatu, São Paulo/SP, Brasil

ONE-DAY-OLD BROILER CHICKS DEATH AFTER HEAT STRESS DURING TRANSPORT: CASE REPORT

MATSUI, A.¹; RUBIO, M. S.¹; RODRIGUES ALVES, L. B.¹; GALO, M.²; VASCONCELOS, R. O.³; BERCHIERI JUNIOR, A.³

¹ Postgraduate student, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista (Unesp). E-mail: drematsui@gmail.com.

² Student in Medicine Veterinary, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Unesp.

³ Professor in Veterinary Pathology Department, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Unesp, Campus de Jaboticabal/SP.

Introduction: The concept of stress was introduced by the German physiologist Hans Seyle in 1936, but it is still today a controversial topic among those involved with animal production, even to scientific community, probably due to the delicate relation between stress and animal welfare (BROSSI *et al.*, 2009). The consumer market, national and international, is increasingly demanding to humanitarian breeding issues, mainly in relation with animal welfare that include from thermal comfort to environmental preservation (CORDEIRO *et al.*, 2010). Since 1992, the Farm Animal Welfare Council (FAWC) conceptualizes the animal welfare as a physical and mental status with entitlement to the “five freedoms”: 1) Freedom from hunger and thirst; 2) Freedom from discomfort and being housed in appropriate environment; 3) Freedom from pain, injury and disease; 4) Freedom to express normal behaviour; 5) Freedom from fear and distress. The animal welfare is the sum of each of these freedoms, as in that way evaluates comprehensively all the factors that interfere with the animal’s quality of life (LUDTKE; GREGORY; DALLA COSTA, 2010). The heat stress, as example, is considered one of the reasons of

welfare decrease, as well as the increase of economic losses by productive decrease or animals’ death, being the outcome of the combination of broiler heat and humidity production, vehicle ventilation and weather conditions (BHANDARE; SHEARD, 2010). At ambient temperatures up to 21°C, the heat sensitive losses by radiation process, conduction and convections predominate; still at high temperatures, the main rote of heat dissipation is the respiratory evaporation (BROSSI *et al.*, 2009). Birds normally respond to stress with physiologicals and behaviours changes and death, being that when the stress is acute, mainly occurs an increase in catecholamines’ levels, such as adrenalín and noradrenalín (BHANDARE; SHEARD, 2010). **Objective:** This study aimed to report a heat stress case of one-day-old broiler chicks during the transport followed by animals’ death, in order to emphasize the importance of animal welfare not only for the animals’ quality of life, but also for their survival. **Case Report:** On February 23th, 2017, one-day-old broiler chicks were transported from the city Amparo/SP to Jaboticabal/SP, in a distance of 297km. The animals (n=4700 chicks) were taken out of the hatchery about 10 o’clock in the morning and arrived at the destination about half past four in the evening. The responsible for the chicks reported that during a travel stop, the animals were about 30 minutes within the vehicle without refrigeration. At this day, the mean ambient temperature was 31°C at Jaboticabal (ACCUWEATHER). During the unloading at the arrival, dead birds were observed and the large majority came to death after that, approximately totaling 2200 dead chicks (46,8%). The more evident clinical signals were the traces of living blood being eliminated by intestine and neurological signs, such as incoordination, torticollis, cervical vertebrae stiffness and “S”-shaped neck. **Results:** Ten chicks were subjected to necropsy and were observed bloody content in the final portion of ileum, large intestine and cecum and was still observed petechiae on the cecum mucosa. The skeletal musculature was reddish. Microscopically, was verified that all the birds had multiphocal areas of necrosis in the neurons and glial cells of the encephalon, besides of perivascular haemorrhage foci and neuronal chromatolysis, predominantly on the Purkinje neurons of cerebellum. In the gut there were haemorrhagic areas on the cecal mucosa as well as discretas heterophilic infiltrate foci and hyperplasia of epithelium cripts. The intestinal content was enriched with blood blended with cellular

debris, mucous and innumerable basophilic bacillus.

Discussion: The necrosis and multiphocal haemorrhagic features in the encephalon summed with the intestinal hemorrhagic content may be related with a hypovolemic shock picture. In non-pyrogenic hyperthermia, one of the causes of tecidual lesions would be related with the animal inability to heat dissipate, resulting in a collapse of several organs, such as those of the circulatory system (hypovolemia, cardiac arrhythmia, disseminated intravascular coagulation and haemorrhages). Other organs may suffer such these side effects, presenting necrosis, haemorrhages, among other findings (SANTOS *et al.*, 2003). In the animals of this report, neurological and enteric lesions are compatible with non-pyrogenic hyperthermia. The time that the animals remained within the truck without refrigeration, in a hot climate, hindered the body heat dissipation which is done by respiration in birds, culminating in lesions and death associated with a circulatory collapse. When birds are subjected to high temperatures there is an increase in respiratory frequency to convert the heat to vapour which is eliminated by the breathing, resulting to body heat decrease. At these situations generally occurs an increase in water intake to compensate the loss of fluid through the breathing. Similary, birds are too sensitive to temperatures over 30°C associated with failure of air circulation inside the truck, because in these cases the body heat dissipation becomes more difficult. In this report, chicks were subjected to higher ambient temperature and did not have water access (HEAT STRESS, 2004). **Conclusion:** This case report illustrates the importance to apply the appropriate environment temperature during chicks transportation. Their stress and mortality could have been avoided if had been respected an adequated transport temperature control.

References

ACCUWEATHER. **Jaboticabal**. Disponível em: <<https://goo.gl/pFz1sb>>. Acesso em: 24 mar. 2017.

BHANDARE, S. G.; SHEARD, P. Cuidado en el transporte de las aves. **World Poultry**, Doetinchem, v. 2, n. 26, p. 56-57, 2010.

BROSSI, C. *et al.* Estresse térmico durante o pré-abate em frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 4, p. 1296-1305, 2009.

CORDEIRO, M. B. *et al.* Conforto térmico e desempenho de pintos de corte submetidos a diferentes sistemas de

aquecimento no período de inverno. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 1, p. 217-224, 2010.

FARM ANIMAL WELFARE COUNCIL. **Five Freedoms**. 1992. Disponível em: <<https://goo.gl/vdBgGj>>. Acesso em: 25 mar. 2017.

HEAT STRESS. **Thermoregulation in poultry**. [S.l.: s.n.], 4 abr. 2004. Disponível em: <<https://goo.gl/3p8vYW>>. Acesso em: 27 mar. 2017.

LUDKET, C. B.; GREGORY, N.; DALLA COSTA, O. A. Principais problemas e soluções durante o manejo pré-abate de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO 2008 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIAS AVÍCOLAS, 2008, Santos. Simpósio sobre bem-estar de frangos e perus e palestras do temário geral. **Anais...** Campinas: FACTA, 2008. p. 109-128.

SANTOS, M. M. *et al.* Hipertermia não pirogênica: relato de casos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, p. 194, 2003. Suplemento.

LACK OF DIAGNOSIS LEADING TO DEATH OF A CAT WITH *AELUROSTRONGYLUS ABSTRUSUS*: CASE REPORT

MATSUI, A.¹; LUZZI, M. C.²; FERREIRA, V. A.³; DOS SANTOS, P. C. D.²; MOREIRA, P. R. R.⁴; ANDRÉ, M. R.⁴.

¹ Master's student in Medicine Veterinary, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (Unesp). E-mail: drematsui@gmail.com.

² Veterinary Anatomic Pathology Resident, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp.

³ Graduating in Medicine Veterinary, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp.

⁴ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp.

Veterinary negligence and malpractice in Brazil are punished not only by administrative instances via Veterinarian's Code of Ethics, CFMV resolution nº 875/2007, chapter V, Federal Council of Veterinary Medicine (BRASIL, 2007), but by juridical instances: Article 927 from Brazilian Civil Code (BRASIL, 2016), and Article 14 of Brazilian Consumer Protection Code (BRASIL, 2017). Therefore, it is extremely important and desirable that the vets have knowledge about the laws that conduct their practices and have prudence while dealing with the patients and the owners. A hasty action

cannot only ruin an entire career for vets, but can cost the animal's life. A vet has to certify not committing these mistakes, mainly in diagnosis and in procedures that deal directly with the patient's life, like anesthesia, surgery and emergency. Some diseases, mainly pneumonias, can act like a trap for an inattentive veterinary. *Aerulostrongylosis* is a pneumonia associated with a nematode particularly common in felines (ELSHEIKHA *et al.*, 2016). This paper is a report of a case of this disease, demonstrating how preliminary exams are essential for the patient's life before submitting them to an anesthetic procedure. *Aerulostrongylus abstrusus* Railliet, 1898 (Strongylida: Angiostrongylidae) is a metastrongyloid nematode, known as "the cat lungworm", and causes *aerulostrongylosis* in domestic and wild felids. This worldwide recognized nematode species is found in the bronchioles and alveolar ducts of definitive hosts, the felines. They have an indirect cycle: the first-stage larvae (L1) are eliminated by cat feces and penetrate in an intermediary host, mainly the gastropod *Achatina fulica* in Brazil, where they mature to the infective third-stage larvae (L3). Cats become infected ingesting intermediate or paratenic hosts (birds, reptiles and rodents). After the ingestion, L3 are released in the digestory tract and migrate to the lungs by lymphatic and circulatory vessels (ANDRADE-PORTO *et al.*, 2012). *Aerulostrongylosis* can elicit several clinical manifestations, ranging from no signs to an important dyspnea, catarrhal chronic cough, polypnea and anorexia, leading to death in some cases. Its occurrence is considered sporadic by vets and affects more free-roaming cats when compared to the owned ones (ELSHEIKHA *et al.*, 2016). Even though the diagnosis of this disease seems easy, because there aren't many worms which can cause similar lesions, it is a challenge by clinical practitioners. A female cat, undefined breed, not castrated, 10 years old, was submitted to necropsy in the year of 2016, after progressing to death during an anesthetic sedation procedure for evaluation of a tongue nodule. She was rescued from the streets by the owner two weeks before. Anamnesis made by the clinical vet showed that the animal was aggressive and has been lying down most of the time, getting up just to urinate. Antibiotic and dypirone have been administered by the owner because of the pneumonia. The owner referred anorexia, cough, and brown stinky catarrh. In addition, vaccination and deworm were outdated and the cat had free access outdoor. Physical examination

revealed dehydration of 6%, heart rate of 120 bpm, breath rate of 70 rpm, body temperature of 37.4°C, pale mucous membranes, submandibular and pre-scapular lymph nodes easily palpable, and a small tongue nodule. In blood exams were found anemia (21% of hematocrit, 3.83 millions/mm³ of red blood cells, 7.3g/dL of hemoglobin) and thrombocytopenia (129000µL). During ambulatorial procedure, chlorpromazine (1mg/kg) and meperidine (5mg/kg) were administered, which made the animal excited. After, cetamine (6mg/kg), midazolam (0,5mg/kg) and physiological solution were made. Unfortunately, the animal died. Multiple brownish nodules of firm consistency were observed in the lungs during necropsy, with a heterogeneous cut surface. In addition, a fibroelastic brown 0.5 x 0.5cm nodule was observed in the tongue. Histopathological exam of the lung parenchyma presented eggs, larvae and adults of *Aerulostrongylus abstrusus*. In addition, interalveolar edema, severe interstitial pneumonia (infiltrated by plasm cells, lymphocytes, macrophages and neutrophils in the alveoli and adjacent tissue, as well in bronchi and bronchioles) and multifocal areas of necrosis with cell debris were also observed. The oral nodule was constituted by hyperplasia of salivary glands associated to moderate fibrous stroma. The final diagnosis was granulomatous pneumonia associated with parasitism and respiratory failure was the *causa mortis*. Necropsy diagnosis is supported by Urquhart *et al.* (1998) and Scofield *et al.* (2005), that described similar multiple nodulations in the lungs and the same morphology of worms found in our sample, besides anorexia and cough. Furthermore, the submandibular and pre-scapular lymph nodes were reactive, resembling the sternal lymphadenopathy found by Lacava *et al.* (2016). Infection by *A. abstrusus* may lead to pneumonia, and even death, if the patient was submitted to an uncorrected or no therapeutic intervention (ELSHEIKHA *et al.*, 2016). Although some animals are asymptomatic, there will be cases in which clinical signs may clearly appear, and differential diagnosis may be followed by the vet. In this special case report, the cat was referred to respiratory clinical problems, and no other complementary exam was performed to clarify those signs. Even though fecal microscopic examination is still the main stay of the diagnosis of *A. abstrusus* infection, a radiographic examination could show the nodules and pneumonia. Respiratory samples, as tracheal swabs, pleural effusions, expectorated material and fine needle aspiration could show the infection too

(ELSHEIKHA *et al.*, 2016). Laboratory findings are not pathognomonic for aelurostrongylosis, but leucocytosis, eosinophilia, anaemia and hypoalbuminemia have been reported (YILDIZ *et al.*, 2011). According to the Veterinarian's Code of Ethics in Brazil (BRASIL, 2007), mistreatment is committed by those who acts hastily and without care. It is the combination of foolishness plus lack of reflection in the professional action, and it is a serious error because the vet could not claim ignorance in the practice, yet he or she has studied the procedures during university. Veterinary negligence is characterized by the omission, passivity and indifference of a professional that has the knowledge and doesn't act in a proper and professional manner, resulting in prejudice to the patient/owner. An anesthetic procedure depresses a lot respiratory rate and nervous system. If an animal has pneumonia, its alveoli could not expand normally. Also, it was verified that many evolutive nematoid worms were taking part in the lung parenchyma, the available surface area for gas exchange. Furthermore, Gerdin *et al.* (2011) supports that sedation or anaesthesia may reduce cat's ability to compensate for diminished air surface area in aelurostrongylosis, compromising lung perfusion and ventilation, which can lead to hypoxia, systemic hypotension and cardiovascular arrest. The conclusion is that preliminary exams made before submitting one animal to an anesthetic procedure could be essential for the patient's life.

References

- ANDRADE-PORTO, S. M. *et al.* Occurrence of *Aelurostrongylus abstrusus* (Railliet, 1898) larvae (Nematoda: Metastrongylidae) infecting *Achatina (Lissachatina) fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca: Gastropoda) in the Amazon region. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 42, n. 2, p. 245-250, 2012.
- BRASIL. Conselho Federal de Medicina Veterinária. Resolução nº 875, de 12 de dezembro de 2007. Aprova o Código de Processo Ético-Profissional no âmbito do Sistema CFMV/CRMV. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 31 dez. 2007. Seção I, p. 137-139.
- BRASIL. Lei nº 10.406, de 10 de janeiro de 2002. **Código Civil**. 62 ed. São Paulo: Saraiva, 2016.
- BRASIL. Lei nº. 8.078, de 11 de setembro de 1990. **Código de Defesa do Consumidor**. 27 ed. São Paulo: Saraiva, 2017.
- ELSHEIKHA, H. M. *et al.* Updates on feline aelurostrongylosis and research priorities for the next decade. **Parasites and Vectors**, Londres, v. 9, n. 1, 15 p., 2016.
- GERDIN, J. A. *et al.* Post-mortem findings in 54 cases of anesthetic associated death in cats from two spay-neuter programs in New York State. **Journal of Feline Medicine Surgery**, Kidlington, v. 13, n. 12, p. 959-966, 2011.
- LACAVAL, G. *et al.* Computer tomography, radiology and ecocardiography in cats naturally infected with *Aelurostrongylus abstrusus*. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, Kidlington, v. 19, n. 4, p. 446-453, 2016.
- SCOFIELD, A. *et al.* Diagnóstico pós-morte de *Aelurostrongylus abstrusus* e caracterização morfológica de ovos e mórulas por meio de histologia e impressão de tecido. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 952-955, 2005.
- URQUHART, G. M. *et al.* Metastrongilídeos de cães e gatos, In:_____. **Parasitologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 52-57.
- YILDIZ, K.; DURU, S. Y.; GOKPINAR, S. Alteration in blood gases in cats naturally infected with *Aelurostrongylus abstrusus*. **Journal of Small Animal Practice**, Chichester, v. 52, n. 7, p. 376-379, 2011.

SUDDEN DEATH OF A DOG AFTER STRESS OCCURRED IN PET SHOP: CASE REPORT

PERLES, L.¹; PIOVAN, G.²; MATSUI, A.¹; LUZZI, M. C.²; MONTEIRO, J. H.³; VASCONCELOS, R. O.³

¹ Postgraduate Student, Veterinary Pathology Department, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (Unesp). E-mail: liviaperles@hotmail.com.

² Veterinary Anatomic Pathology Resident, Veterinary Pathology Department – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp.

³ Professor in Veterinary Pathology Department, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Campus de Jaboticabal/SP.

The retail business known as “pet shops” or “pet stores” are places where medicines, food, and accessories for animals are commercialized, and many of them provide other services such as hygienic care (pet cleaning and grooming). In Brazil, this field of activity is increasing every year, and it is estimated that the city

of São Paulo has more than 4,000 pet shops available (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2014). Brazilian pet industry was responsible for an income of R\$ 18 billion in 2015, a growth of 7.6% over 2014, and occupies the third place in the worldwide market (PETBRASIL, [201-]). Though the first demand of pet shops is for pet food, hygienic care of dogs and cats occupies the second place (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2014). Another element that contributes for the growing of pet sector is “humanization” of pets, as well as the fact that many owners don’t have time or skill to perform the proper hygiene of their animals (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2014; CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2015). Due to anxiety, aggression, and panic that some animals may present during bathing or grooming, some of them could die from respiratory collapse as a result of stress (MARIA; REGO; MAIORKA, 2013). In these animals, the death Results: from edema and pulmonary hemorrhage, and it can happen in a few minutes after the onset of clinical signs (MARIA, 2010). Psychological, physical and social stressors are classified according to duration (acute or chronic), intensity (low, moderate or high) and other characteristics. Cold, heat, noise and vibration are considered physical stressors. Anxiety, fear, and frustration are included in psychological stressors; dominance, the Introduction: of new individuals into the habitat, transfer of habitats, are examples of the social ones (PACAK; MCCARTY, 2007). These stressors can imbalance animal homeostasis and change biological functions (SELYE, 1936; SELYE, 1956; MÖBERG, 2001). It is important that people who works in pet shops are suitably qualified, mainly to be able to use the correct techniques and to recognize the signs that these animals could present and minimize the occurrence of deaths during procedures (MARIA *et al.*, 2015). This case report has is the description of an animal death related to stressing factors in a pet shop, aiming to contribute to the scarce literature on factors that interfere with animal welfare. A female dog, Shih Tzu, four years old, was sent to the necroscopic exam after a sudden death in a pet shop. The owner reported no clinical-physical alterations and normal behavior

before being taken to the pet shop. During the bath, the dog started to become prostrated, with a loss of muscle strength. The veterinarian responsible for the pet shop was called by the groomer to give the first aids. However, the animal vomited blood and died when the medical procedure started, with no able time for evaluation. Necropsy showed ocular and anal mucosa typically colored, and red oral mucosa. Both sides of the nose and below the eyes had blood. There was also a 6cm trichotomy area associated with a discrete hematoma in the left hind limb. Trachea showed a moderate amount of red foamed liquid in the lumen, mainly concentrated in carina region. Lungs were red, and a great amount of blood drained to the cut. The liver was moderately congested. At the opening of the skull, the suture lines of fontanelles were evident marked, dura mater and brain diffusely reddish, and no bruise was observed in adjacent tissues. Other organs with no macroscopic changes worthy of note. The microscopic exam, made by hematoxylin-eosin staining, showed lungs with diffuse and severe pulmonary edema (bronchial and alveolar), severe congestion, multiple emphysematous areas with rupture of some alveoli. No notable microscopic changes were observed in the nervous system. The diagnosis concluded a severe pulmonary edema and hemorrhage, resulting in acute respiratory failure. The findings suggest respiratory collapse due to stress. Small dogs, especially the breeds Poodle, Lhasa-apso, Yorkshire, Shih-Tzu, and Maltese are the ones most likely to die from stress. Animals younger than one year of age are also more likely to die from stress. Most stressed animals die from pulmonary hemorrhage and edema (MARIA *et al.*, 2015). Animal death cases can be elucidated by necropsy, and this technique is considered one of the main instruments for legal veterinary medicine. In cases of deaths of legal interest, like recklessness, negligence, and traumas, the necropsy has been widely used (SALVAGNI *et al.*, 2014). According to Gerdinet *et al.* (2013), determination of animal abuse may have a photographic registry of the necropsy, being considered extremely important for the proof in legal cases. In conclusion, the risks that could be involved in bathing and grooming procedures should always be clarified to pet owners. Security measures and suitable qualification of professionals must be sought for the pet stores, including the presence of the veterinarian. If pet stores act with respect to the animals and the owners,

the number of deaths and the possibility of undergoing legal processes could significantly be reduced. Whenever an animal dies, regardless the situation, necropsy must be performed to establish the cause of death. A bath and grooming environment must have been seen as a harmless place because a healthy animal can die during these procedures as a result of physical or stress traumas (MARIA; REGO; MAIORKA, 2013).

References

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO. **Indústria nacional fatura R\$ 15,2 bilhões e já representa 0,31% do PIB nacional 2014**. Disponível em: <<https://goo.gl/CVU03n>>. Acesso em: 19 mar. 2015.

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Informativo nº 60**. São Paulo: CRMV-SP, 2015. 28 p. Disponível em: <<https://goo.gl/owVJDd>>. Acesso em: 23 mar. 2016.

GERDIN, J. A.; MCDONOUGH, S. P. Forensic pathology of companion animal abuse and neglect. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 50, n. 6, p. 994-1006, 2013.

MARIA, A. C. B. E. **Principais alterações encontradas em necropsias de cães e gatos que vieram a óbito durante procedimentos em petshops e similares**. 2010. 114 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

MARIA, A. C. B. E.; REGO, A. A. M. S.; MAIORKA, P. C. Necropsy findings in dogs that died during grooming or other pet service procedures. **Journal of Forensic Sciences**, Chichester, v. 58, n. 5, p. 1189-1192, 2013.

MARIA, A. C. B. E. *et al.* Óbitos de cães e gatos durante procedimentos de banho e tosa: uma realidade pouco conhecida no Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 24-29, 2015.

MOBERG, G. P.; MENCH, J. A. **The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare**. Oxon: CAB International, 2001.

PACAK, K.; MCCARTY, R. Acute stress response: experimental. In: FINK, G. (Ed.). **Encyclopedia of stress**. San Diego: Academic Press, 2007. v. 1, p. 7-14.

PETBRASIL. **Mercado brasileiro**. São Paulo, [201-]. Disponível em: <<http://www.petbrasil.org.br/mercado-brasileiro>>. Acesso em: 23 mar. 2016.

SALVAGNI, F. A. *et al.* Patologia veterinária forense: aplicação, aspectos técnicos e relevância em casos com potencial jurídico de óbito de animais. **Clínica Veterinária**, São Paulo, v. 19, n. 112, p. 58-72, 2014.

SELYE, H. The birth of the G.A.S. In: _____. **Stress of life**. New York: McGraw-Hill, 1956. p. 25-43.

SELYE, H. A. Syndrome produced by diverse noxious agents. **Nature**, New York, v. 138, p. 32, 1936.

IATROGENIC BLADDER RUPTURE FOLLOWING REPEATED CYSTOCENTESIS

MATOS, M. G.¹; VIANA, D. A.²; LOPES, C. E. B.¹; PIMENTEL, S. P.¹; RODRIGUES, F. R. N.¹

¹ Undergraduate Student of Veterinary Medicine at Universidade Estadual do Ceará (Uece). E-mail: magna570@gmail.com.

² Professor of Animal Pathology, MSc, DSc. Universidade Estadual do Ceará and Technical Scientific Director of Laboratório Pathovet – Anatomia Patológica e Patologia Clínica S/S LTDA (<http://www.pathovet.com.br>), Fortaleza.

Introduction: Cystocentesis is a medical procedure to collect urine for diagnostic evaluation and also temporarily decompress the urinary bladder in animals with urethral obstruction. When performed correctly is a safe procedure, as long as it is performed by trained personnel. Otherwise there is risk of rupture of the bladder leading to uroabdomen and hemorrhage, culminating in some cases with patient's death. Medical procedures are a major reason to perform forensic autopsy, as some of these can cause iatrogenic conditions, which represent a state of illness, adverse effects or complications caused by or resulting from medical intervention, sometimes considered as an error. A medical error can be seen as the result of interactions between the cognitive limitations of an individual and the environment or system which influences their decisions. So, there are a lot of reasons such as lack of technical knowledge or practical ability, illness or even effects of stress, but whatever the reason of the medical error was, it could end up causing a major negative effect on the

patient's life or, in the worst case scenario, contribute to the patient's death. The role of veterinary forensic pathology in the investigation of animal abuse, neglect, or even medical veterinary errors is documenting the condition of animals presented as evidence. In this matter, a male cat, previously diagnosed with a renal insufficiency that was undergoing palliative treatment for this condition, started to present clinical signs of urethral obstruction (difficulty for eliminate urine due to a physical obstruction of its natural path), for this reason, the owner looked to a veterinary clinic where the animal was attended sedated and was put through a cystocentesis procedure in order to improve wellness for the patient and collect samples for lab analysis. After the medical procedure the cat was sent home, and started presenting signs such lethargy, gasp, sialorrhea, two hours after medical release, unfortunately passing away in his home. The cat's owner found strange that the animal was fine when he left the clinic ended up developing such morbid process few moments after he just got home so he requested a necropsy procedure in order to clarify what happened to his pet. **Methods:** The owner requested a necropsy procedure, in order to clarify the reason why his pet died, considering its renal condition was under control, and a urethral obstruction did not look like enough reason for such morbid process. The necropsy procedure was performed by the service of Pathology and Legal Medicine of Laboratório PATHOVET – Anatomia Patológica e Patologia Clínica Veterinária LTDA, using a modified technique of Armed Forces Institute of Pathology (2001) veterinary necropsy protocol. All image records were taken there. The biological samples were analyzed in the same laboratory. **Results:** On external examination of the body, there was a recent bruise on the abdominal medial area (Figure 1 – A) that was correspondent with a massive clot located right above the convex zone of the bladder (Figure 1 – B). In addition, there was fluid in the abdomen which after biochemical and microscopic evaluation it was recognized as uro and hemoperitoneum. Externally, the bladder presented a pattern of multiple irregular hemorrhagic and necrotic areas also seen in the internal face mucosa. Histopathological analysis revealed a necrotic cystitis with extensive hemorrhage, confirming the macroscopic diagnosis for the bladder lesion. A massive congestion and edema was seen in the lungs

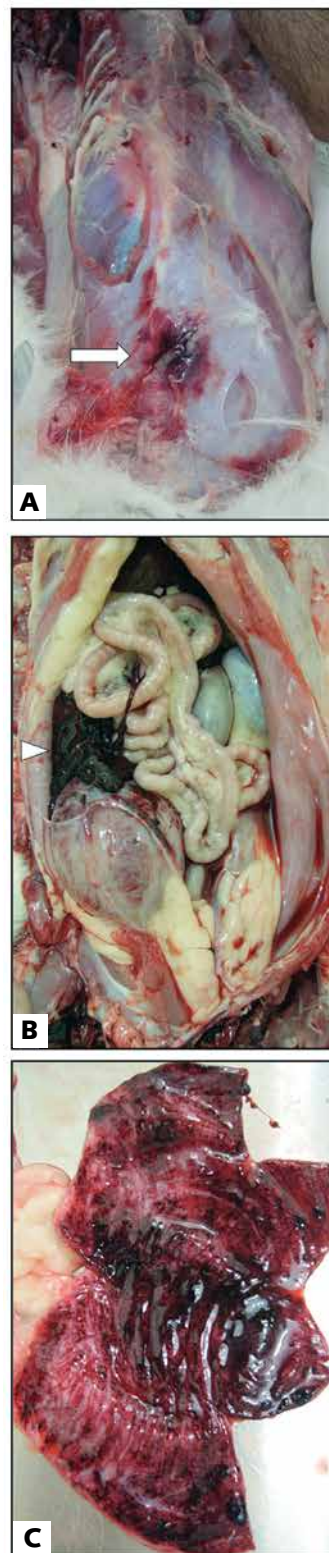


Figure 1 - Abdominal bruise (arrow) (A) and correspondent big clot right above convex zone of the bladder (arrow head) (B) as an evidence of hemoperitoneum. (C) Hemorrhage and necrosis in the urinary bladder mucosa. Source: Personal file.

The cause of death was attributed to hypovolemic shock and respiratory failure with the main findings consisting in lung massive edema and congestion, uro/hemoperitoneum, and necrotic hemorrhagic cystitis (Figure 1 – C).

Discussion: Urethral obstruction is a common and potentially life-threatening manifestation of feline lower urinary tract disease. Many aspects in its management are considered to be universal and typically include initial relief of the obstruction through catheterization or cystocentesis. Although there are many benefits to performing a cystocentesis many practitioners doesn't perform this technique because it could result in tearing or bladder rupture with resultant development of uroperitoneum and possible hypovolemic shock when significant hemorrhage occurs. A prior cystocentesis helps to relieving the back-pressure against the obstruction (whether stone, plug, or spasm) making for easier passage of a urinary catheter and decrease potential for urethral trauma. So it can be used as a therapeutic procedure once before catheterization. Multiple cystocentesis in a short period of time with the aim of relieving bladder pressure without proper catheterization is practice not indicated. In the present case the pattern of lesions found indicates that the hypovolemic shock could be explained by the intense hemorrhage triggered after a series of mismanaged cystocentesis procedures. Indeed, the patient went through seven different attempts of cystocentesis (revealed by the vet after the necropsy exam), none of them ultrasound-guided, which can easily make the damage in the bladder that was found in the necropsy and also result in urine extravasation from the bladder to the abdomen, even more likely to happen in an animal that was already presenting a clinical symptoms of urinary obstruction, meaning that the bladder was probably full and completely distended. There are aspects related to skill level and technique that might also impact the risk associated with the procedure of cystocentesis in urethral obstruction in cats, but as more distended, pressurized, and friable the bladder is (ie, the sicker the patient), greater is this risk of an accident. The patient here reported was diagnosed with chronic kidney disease two years before and was undergoing treatment for this condition. Multiple cystocentesis in

a friable bladder wall can lead to its rupture with the consequent leakage of urine and severe hemorrhage leading to the hypovolemic shock that killed the animal.

Conclusion: This case report is a suitable example of a mismanaged medical procedures that can result in an animal death, consequently being classified as an animal-related crime. Deaths by mismanaged medical procedures are common in forensic pathology both veterinary and medical, which makes important the analysis and Discussion: of this kind of occurrence to be described protocols of necropsy and even necropsy reports that could be used, for instance, as a tool in a court.

References

- ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY. **Technical Bulletin Med. nº 283:** veterinary necropsy protocol for military working dogs and pathology specimen submission guidelines. Washington, D.C.: Department of the Army, 2001.
- AUMANN, M.; WORTH, L; DROBATZ, K. J. Uroperitoneum in cats: 26 cases (1986–1995). **Journal of the American Animal Hospital Association**, Elkhart, v. 34, n. 4, p. 315-324, 1998.
- BROWNLIE, H. W. B.; MUNRO, R. The veterinary forensic necropsy: a review of procedures and protocols. **Veterinary Pathology**, Lawrence, v. 53, n. 5, p. 919, 2016.
- CUEVAS, S. E. C. *et al.* Papel da patologia forense veterinária na investigação de óbito sob circunstâncias desconhecidas de um cão. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 49, 2016.
- FORRESTER, S. D. Urogenital Diagnostic Procedures. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (Eds.). **Textbook of veterinary internal medicine**. 6. ed. St. Louis: Elsevier Health Sciences, 2005. v. 1. p. 299-301.
- FRANÇA, G. V. **Medicina legal**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. 748 p.
- LOCKWOOD, R.; ARKOW, P. Animal abuse and interpersonal violence: the cruelty connection and its implications for veterinary pathology. **Veterinary Pathology**, Lawrence, v. 53, n. 5, p. 910-918, 2016.

TAXONOMIC DISCRIMINATION OF EVIDENCE PRODUCED BY PUMAS AND DOGS IN OUTDOOR DEPREDATIONS, FROM THE FORENSIC VETERINARY PERSPECTIVE

SCARSO-GIACONI, F.^{1,2}; FONSECA, G. M.²

¹ Carrera de Medicina Veterinaria, Universidad Mayor, Santiago (Chile). E-mail: fabiana.scarso@mayor.cl.

² Laboratorio de Pericias en Odontología Forense, Facultad de Odontología, Universidad de La Frontera, Temuco (Chile).

Introduction: Puma (*Puma concolor*) has great adaptability, but the loss of habitat and prey has originated conflicts in their interactions, which the predation of livestock has originated misperception as pest and persecution. However, it has been shown that dogs (*Canis lupus familiaris*) can also attack cattle causing disturbing damage. The lack of strategies and absence of qualified personnel evaluating each case can mask the real impact of the predation patterns of puma and dog attacks, that are different in their nature and effects but could be misinterpreted causing excessive reactions. The interdisciplinary approach in a forensic context can optimize the information of the scene and the victim, and the veterinarian practitioner have the knowledge and skills for this. The goal of this work is to review the state of the art of the analysis of evidence produced by pumas and dogs in outdoor depredations in forensic contexts and to discuss future perspectives to improve this analysis with the inclusion of forensic veterinarians in these procedures.

Method: It is present a systematic review of observations and procedures that allow discriminating taxonomically the evidence produced by dogs and pumas in outdoor depredations. An electronic search was made of the PubMed/Medline, SciELO, LILACS and REDALYCS databases up to December 2016 using the terms and strategy (“puma” OR “cougar”) AND (“dog” OR “canine”) AND (“attack” OR “predation”) in Spanish and English. Abstracts were reviewed for relevance to the defined review question. Full texts of case reports, case series, technical notes, reviews and original studies available in English, Spanish and Portuguese were included. Newsgroup articles and letters to the editor were excluded. **Results:** According to inclusion/exclusion criteria, eight were selected: case reports (4), original studies (2) and reviews (2) that indicated taxonomic patterns of attack or procedures at the scene and the victim. Articles from USA (2), Argentina (1), Australia (1), Brazil (1) and

Italy (1) were identified; partnerships between Argentina/Chile/Spain (1) and Colombia/Mexico (1) were also detected. Although the way in which an animal attacks depends on the species, attacks of dogs and puma may be confusing to the untrained eye when protocols of observation, photography, collection of traces or necropsy are not applied at the scene. The analysis of the pattern of wounds (bite marks and claw marks) was particularly highlighted as important but less explored. **Discussion:** A trained veterinarian included in the forensic team can contribute to taxonomically identifying the predator through the analysis of footprints, claw marks, hair and feces at the scene, and by analyzing the circumstances of the incident. In cases of dog attacks, it should specifically be their role handling the animal suspect if captured, to evaluate gastric contents (through the use of emetics) or even to analyze the ethological patterns. If appropriate discrimination between puma and dog has not been carried out, this may result in a threat to the conservation of the first. **Conclusion:** It is proposed to create training opportunities for veterinarians to allow them to be included in the forensic investigation teams to assist in cases of animal predation and to prevent threats of the species and of regional ecology.

References

- BURY, D.; LANGLOIS, N.; BYARD, R. Animal-related fatalities-part I: characteristic autopsy findings and variable causes of death associated with blunt and sharp trauma. **Journal of Forensic Sciences**, Chichester, v. 57, n. 2, p. 370-374, 2012.
- CONRAD, L. Cougar attack: case report of a fatality. **Journal of Wilderness Medicine**, London, v. 3, n. 4, p. 387-396, 1992.
- COOPER, J. E.; COOPER, M. E. Forensic veterinary medicine: a rapidly evolving discipline. **Forensic Science, Medicine, and Pathology**, Totowa, v. 4, n. 2, p. 75-82, 2008.
- FONSECA, G. M. *et al.* Forensic studies of dog attacks on humans: a focus on bite mark analysis. **Research and Reports in Forensic Medical Science**, Macclesfield, v. 5, p. 39-51, 2015.
- FONSECA, G. M.; PALACIOS, R. An unusual case of predation: dog pack or cougar attack? **Journal of Forensic Sciences**, Chichester, v. 58, n. 1, p. 224-227, 2013.
- HERNÁNDEZ-GUZMÁN, A.; PAYÁN, E.; MONROY-VILCHIS, O. Hábitos alimentarios del *Puma concolor* (Carnivora: Felidae) en el Parque Nacional Natural Puracé, Colombia. **Revista de Biología Tropical**, San José, v. 59, n. 3, p. 1285-1294, 2011.

SANTORO, V. *et al.* A forensic approach to fatal dog attacks. A case study and review of the literature. **Forensic Science International**, Lauseanne, v. 206, n. 1-3, p. e37-42, 2011.

SRBEK-ARAUJO, A. C.; CHIARELLO, A. G. Domestic dogs in Atlantic forest preserves of south-eastern Brazil: a camera-trapping study on patterns of entrance and site occupancy rates. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 68, n. 4, p. 771-779, 2008.

VERDADE, L. M.; CAMPOS, C. B. How much is a puma worth? Economic compensation as an alternative for the conflict between wildlife conservation and livestock production in Brazil. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 4, n. 2, p. 1-4, 2004.

WENGERT, G. M. *et al.* Molecular techniques for identifying intraguild predators of fishers and other North American small carnivores. **Wildlife Society Bulletin**, Bethesda, v. 37, n. 3, p. 659-663, 2013.

WILD BIRD TRAFFICKING IN BRAZIL AND THE VETERINARY PHYSICIAN'S ACTIVITIES

CARINHATO, R. A. P.¹, SANCHES, J. M.¹, MASSENO, A. P.²

¹ Course student of Veterinary Medicine, Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral (Faef) in Garça/SP. E-mail: renata.ap@live.com.

² Advisor and Professor of Veterinary Medicine, Faef in Garça/SP.

Introduction: The Brazilian fauna has a high biodiversity, introducing about 10% of 1,400,000 animals catalogued on the planet (BRASIL, 2002). This data makes Brazil as a target country in the trade of wild animals. According to Rede Nacional Contra o Tráfico de Animais Silvestres ([2012?]) surveys, it was concluded that: About 80% of the smuggled animals are birds, moving around R\$ 3 billion. Therefore, the large amount of money involved in the purchase of animals combined with the high level of poverty in certain regions of Brazil, is the reason that can promote even more the illegal trade. In addition, the capture of wild animals is linked to the use of members of the fauna as pets, source of income and as food (FREITAS *et al.*, 2015). An important point for the conservation of wild birds is the knowledge of the fauna that is kept illegally. It is necessary the analysis of the species, number of specimens, animal health conditions and the appropriate treatment to be performed to return them to the homeostasis. To all of these

assumptions the Veterinarian is essential profession. After the rescue of these birds and their appropriated treatment, their main destination is returning them to the nature (RIBEIRO; SILVA, 2007). This paper performs an analysis of birds traffic in Brazil and discuss the importance of the veterinarians in the control of this practice. **Materials and Methods:** The present assignment was made through a literature review, based in a scientific research analysis such as articles and monographs from February to March 2017. The review was systematic, in which it was perform retrospective observational studies. **Results and Discussion:** The most analyzed Brazilian birds were those with high external traffic, such as the Lear's Macaw (*Anodorhynchus leari*), sold for US\$ 60 thousand, and the Red-tailed Parrot (*Amazona brasiliensis*) for US\$ 6 thousand, both marketed for collections, and indoors, such as passerines, goldfinches (*Carduelis yarrellii*), Seven-coloured tanager (*Tangara fastuosa*), Saffron finch (*Sicalis flaveola*) sold for prices varying from R\$ 30 to R\$ 200. These birds are considered rare because they are being found less frequently in their natural habitats, which may show a reflection of the indiscriminate capture. Also, the birds of the Family Psittacidae, such as the Blue Fronted Parrot (*Amazona aestiva*) are of great interest of traffic because they mimic the human voice (GOMES; OLIVEIRA, 2012).

Chart 1 - Classification of the most traded wild birds in Brazil.

| Order | Family | Species |
|------------------|---------------|-------------------------------|
| Accipitiformes | Accipitridae | <i>Elanus leucurus</i> |
| Anseriformes | Anatidae | <i>Dendrocygna bicolor</i> |
| Apodiformes | Trochilidae | <i>Eupetomena macroura</i> |
| Caprimulgiformes | Caprimulgidae | <i>Chordeiles acutipennis</i> |
| Falconiformes | Falconidae | <i>Falco sparverius</i> |
| Passeriformes | Fringilidae | <i>Carduelis yarrelli</i> |
| | Thraupidae | <i>Tangara fastuosa</i> |
| | | <i>Alipiositta xanthops</i> |
| Piciformes | Ramphastidae | <i>Amazona amazonica</i> |
| | | <i>Amazona vinacea</i> |
| | | <i>Ara ararauna</i> |
| | | <i>Ara macao</i> |
| Psittacioformes | Psittacidae | <i>Aratinga auric</i> |

Source: BRASIL, Ministério do Meio Ambiente.

The knowledge of the fauna coming from the capture, trade and handled illegally in Brazil is an important tool for a conservation of the species. It is necessary the improvement of environmental educational actions, directed to the population, and control actions of wild animals traffic. These observation Results: demonstrated a large variety and quantity of birds being trafficked (FREITAS *et al.*, 2015). The Forensic Institutes are composed of multidisciplinary professionals with the Objective: of reaching the widest possible range of sciences to assist the Law. In the new modality of animal abuse crime, the State has the responsibility to retrieving the traces related to the animals, turning over the work to the forensic expert with training in Veterinary Medicine. Therefore, it is of extreme importance the monitoring of experts in traffic cases of wild birds. The reduction of traffic could be achieved performing a social work, raising awareness of a population that inhabits areas considered natural habitat of birds. (YOSHIDA, 2013). The conservation of these birds is also responsibility of the professional of this area, who acts with biotechnologies applied to animal reproduction, such as cloning, and reproducing animals that are presenting the risk of extinction. While there are still bioethical issues involved, advances in stem cell research provide a future for a pluripotent stem bank for an artificial production of gametes of endangered species (LOPES *et al.*, 2014).

Conclusion: Although many birds species are annually capture in Brazil for internal and external trafficking of wild animals, the veterinarian has a fundamental position to identify the species and treat the animal that is often rescued extremely debilitated. The growing commercialization in Brazil according to the review carried out is due to the low income of individuals living in the region where birds are easier captured. Possible alternatives to control the traffic of wild animals could be people education and social environmental awareness carried out by the veterinarians in places of greatest occurrence of this practice and the usage of the advances of animal breeding biotechnologies to conserve endangered species.

References

- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Biodiversidade brasileira**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente; Secretaria de Biodiversidade e Florestas, 2002. Disponível em: <<https://goo.gl/JngnZQ>>. Acesso em: 10 mar. 2017.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instrução normativa nº 3, de 26 de maio de 2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 28 maio 2003. Seção 1, p. 88. Disponível em: <<https://goo.gl/04Am7R>>. Acesso em: 10 mar. 2017.
- FREITAS, A. C. P. *et al.* Diagnóstico de animais ilegais recebidos no centro de triagem de animais silvestres de Belo Horizonte, estado de Minas Gerais, no ano de 2011. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 1, p. 163-170, 2015.
- GOMES, C. C.; OLIVEIRA, R. L. O tráfico internacional de animais: tratamento normativo e a realidade brasileira. **Revista Direito e Liberdade**, Natal, v. 14, n. 2, p. 33-49, 2012.
- LOPES, C. T. A. *et al.* Células-tronco e reprodução animal: aplicações em potencial. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 8, p. 299-301, 2014. Suplemento 2.
- REDE NACIONAL CONTRA O TRÁFICO DE ANIMAIS SILVESTRES (Renctas). **1º Relatório Nacional sobre o tráfico de fauna silvestre**, Brasília, DF, 2001, 107p. Disponível em: <<https://goo.gl/ntSKbC>>. Acesso em: 10 mar. 2017.
- RIBEIRO, L. B.; SILVA, M. G. O comércio ilegal põe em risco a diversidade das aves no Brasil. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 59, n. 4, p. 4-5, 2007.
- YOSHIDA, A. S. **Importância do perito oficial médico-veterinário no levantamento de provas nos crimes de maus-tratos aos animais**. 2013. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

EXTERNAL INJURIES IN GREEN TURTLES (*CHELONIA MYDAS*) SUBMITTED TO NECROPSIA IN THE TAMAR PROJECT OF UBATUBA IN THE PERIOD FROM NOVEMBER 2015 TO JUNE 2016

ARDUINI, I. T.ª; TASAKA, A. C.¹

¹ Course of Veterinary Medicine, Universidade Paulista (Unip), São José dos Campos, São Paulo, Brazil. E-mail: ana.tasaka@docente.unip.br.

Introduction: *Chelonia mydas*, also known as the Green Turtle, or Aruanã, is present in tropical and subtropical areas of the world and performs complex migratory strategies, and has been reported on the coast of at least 140 countries (LAGUEUX, 2001). The region of Ubatuba is a feeding place for several juvenile turtles and it is not uncommon to find it adrift, or on the beach.

Chelonia mydas is included in the Red List of species threatened by International Union for Conservation of Nature (IUCN). The Ubatuba Tamar Project carries out an important environmental protection action, through environmental education and treatment of sick or non-returnable animals. External injuries in marine animals may be due to normal predation in nature, but may also result from human action. When sea turtles die in good nutritional state, the suspicion is of severe injury, resulting from contact with boats, or by fishing nets and lines, with consequent drowning (SALES *et al.*, 2003). **Objective:** The aim of this study was to analyze the external lesions commonly found in animals taken at necropsy in the Ubatuba Tamar Project (Latitude: -23.45229; Longitude: -45.07126), São Paulo-Brazil, during the period from November 2015 to June 2016.

Material and Methods: Data were tabulated for sex, washer number, weight, length, width, type of injury, and site of its occurrence in the body of the animal, according to Bolten (1999). It was performed inspection of the animal, analysis of the general condition, weighing and measuring cranio-caudal and latero-lateral of the carapace. Photographs of the animals were taken with a digital camera. The project was approved by the Ethics Committee of Unip (n° 393/15) and Sisbio (n° 50659-1).

Results: Six animals were analyzed, as shown in Tables 1 and 2, and illustrated in Figures 1 and 2. The animals were found alive and floating, dying during treatment, except *Chelonia 2*, which was already dead.

Table 1 - List sex, turtle number, weight in kg, length and width in centimeters, as well as body condition of the animal at the time of analysis.

| <i>Chelonia</i> and sex | Turtle number | Weight (kg) | Curvilinear carapace length (cm) | Maximum curvilinear width (cm) | Body Condition |
|----------------------------|------------------|----------------|---|---|-------------------|
| 1♀ | 99848 | 2,8 | 34 | 31,0 | cachexia |
| 2♀ | no number | 5,8 | 35,6 | 33,3 | good |
| 3 n/s | 02A07 | 13,6 | 55 | 53,5 | cachexia |
| 4 n/s | 02419 | 7,4 | 41 | 38,0 | good |
| 5 n/s | 00219 | 5,8 | 36 | 33,5 | good |
| 6 n/s | 42593 | 4,5 | 34,5 | 31,2 | good |

♀: female. n/s: not known

Source: Isabela Teixeira Arduini (2016).

Table 2 - List the types of external injuries, location and possible causes of injury.

| <i>Chelonia</i> | Type of injury | Injury site | Possible cause of injury |
|-----------------|-------------------|--|------------------------------|
| 1 | incised wound | distal right hull region | fishing line or net |
| 2 | incised wound | distal left hull region | fishing line or net |
| 3 | chop wound | medial proximal hull region | boat propeller |
| 4 | incised wound | right upper member | predation |
| 5 | incised wound | superior members | fishing line or net |
| 5 | chop wound | distal shell region to the posterior left member | boat propeller |
| 6 | chop wound | injury of the first and second ver- tebral shield; head and hind limb injury | boat propeller; predation |

Source: Isabela Teixeira Arduini (2016).

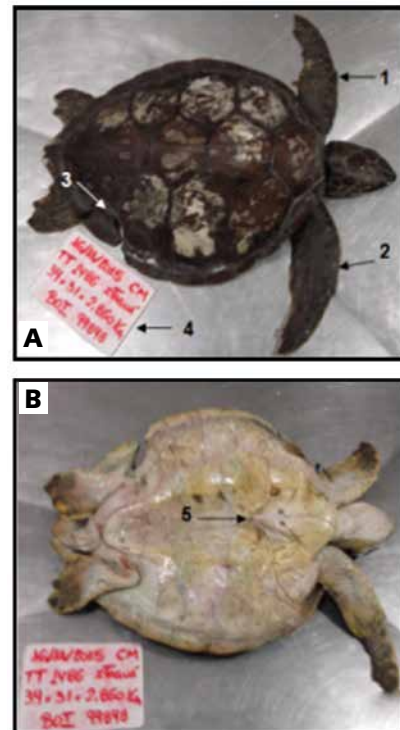


Figure 1 - *Chelonia 1* (A) Dorsal view; at the tip of arrows 1 and 2 a diminution of the width of the limb can be seen, 3, there is injury by cutting material and 4, identification plate of the Tamar Project. (B) Ventral view; in arrow 5 is noticed the bone exposure because of the high degree of cachexia. Source: Isabela Teixeira Arduini (2016).

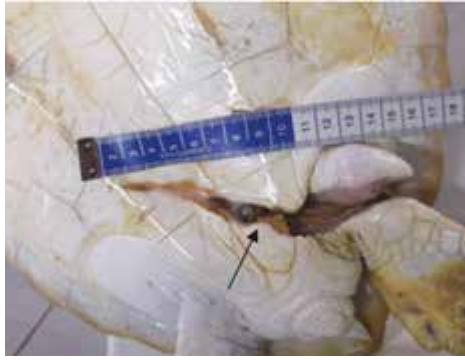


Figure 2 - *Chelonia 5* Chop wound lesion with 15 cm in length.

Source: Isabela Teixeira Arduini (2016).

Discussion and conclusion: External traumatic injuries were common in *Chelonia mydas* who were sent to Tamar Project in Ubatuba; it is estimated that man-made objects present in the marine environment are mainly responsible for the external injuries, that can lead to starvation and death; most of them were found drowning. In nature, large predatory fish, such as sharks, and large fish may predate juvenile turtles. The death of juvenile may represent an important environmental impact, since it compromises the long-term reproduction; *Chelonia* take from 20-30 years to reach the reproductive age. A higher number of injured animals were observed in the months of December and January (data not shown), which can be justified by the fact that in these months there are more tourists in the region, with a higher frequency of fishing and vessels around the animals feeding areas, which favors the occurrence of accidents. The increase of research in this area of knowledge is of great importance.

References

BOLTEN, A. B. Techniques for measuring sea turtles. In: ECKERT, K. L. *et al.* (Ed.). **Research and management techniques for the conservation of sea turtles**. Washington: IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group, 1999. p. 110-114.

INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE. **IUCN red list of threatened species**. Disponível em: <<https://goo.gl/RfawHh>>. Acesso em: 1 maio 2006.

LAGUEUX, C. Status and distribution of the green turtle, *Chelonia mydas*, in the Wider Caribbean Region. In: MARINE TURTLE CONSERVATION IN THE WIDER CARIBBEAN REGION: A DIALOGUE FOR EFFECTIVE REGIONAL MANAGEMENT, 1999, Santo Domingo. **Proceedings...** St. Croix: Widecast; IUCN-MTSG; WWF; Unep-CEP, 2001. p. 32-35.

SALES, G. *et al.* Captura incidental de tartarugas marinhas pela frota de rede de emalhe de deriva sediada em Ubatuba, São Paulo, Brasil. In: JORNADAS DE CONSERVACIÓN Y USO SUSTENTABLE DE LA FAUNA MARINA, 2.; REUNIÓN DE INVESTIGACIÓN Y CONSERVACIÓN DE TORTUGAS MARINAS DEL ATLÁNTICO SUR OCIDENTAL, 1., 2003, Montevideo. **Libro de Resúmenes...** [S.l.: s.n.], 2003. p. 65.

GUNSHOT IN A YELLOW-HEADED CARACARA (MIVALGO CHIMACHIMA): CASE REPORT

PERLES, L.¹; KAWAMOTO, F. Y. K.²; COUTO, C.³; WERTHER, K.⁴; MINTO, B. W.⁵

¹ Postgraduate student, Veterinary Pathology Department, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista (Unesp). E-mail: liviaperles@hotmail.com.

² Postgraduate student, Department of Clinics and Surgery, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Unesp.

³ Resident of Wild Life Medicine, Veterinary Pathology Department, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Unesp.

⁴ Professor in Veterinary Pathology Department, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Campus de Jaboticabal/SP.

⁵ Professor in Department of Clinics and Surgery, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Campus de Jaboticabal/SP.

Introduction: Anthropogenic injuries have been frequently described in raptorial, including habitat destruction, pollution, car collisions, structure impacts, and poaching by trap or gunshot. (PUNCH, 2001). In Brazil, hunting or trapping of any free-living animal, including birds of prey species is forbidden by the law number 5.197, from January 3th, 1967 (INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE, 2008) and by the art. 29 of the Environmental Crimes, Law 9.605/98 (BRASIL, 1998). In spite of this law, it is frequent in the wild animal clinic to receive birds with fractures and internal organ damage caused by firearm projectiles. There are several studies in other countries which demonstrate that hunting is an important factor causing mortality of these animals, especially raptors (DEEM; TERRELL; FORRESTER, 1998; PUNCH,

2001; WENDEL; SLEEMAN; KRATZ, 2002). This case report is the description of multiple fractures caused by gunshot in a Yellow-headed caracara (*Mivalgo chimachima*).

Case report: A free-living, adult, male *Mivalgo chimachima*, with 302gr was referred to the Wildlife Medicine Service of Unesp – Jaboticabal after being seen by civilians falling near a stone-quarry in Itápolis city, São Paulo State, Brazil. At physical exam the animal was alert, with severe dehydration, normal temperature, hypocorous mucosa exposure fracture in right radioulna with massive blood lost and left tibiotarso fracture. Animal was medicated with tramadol (5mg/Kg, IM), meloxicam (0,2mg/Kg, SC), enrofloxacin (15mg/Kg, SC) and fluid therapy (60ml/kg Lactate Ringer). Radiographs was performed and showed transversal fracture in left tibiotarso, comminuted fracture in right radio-ulna and presence of projectile in coelomic cavity (Figure 1).

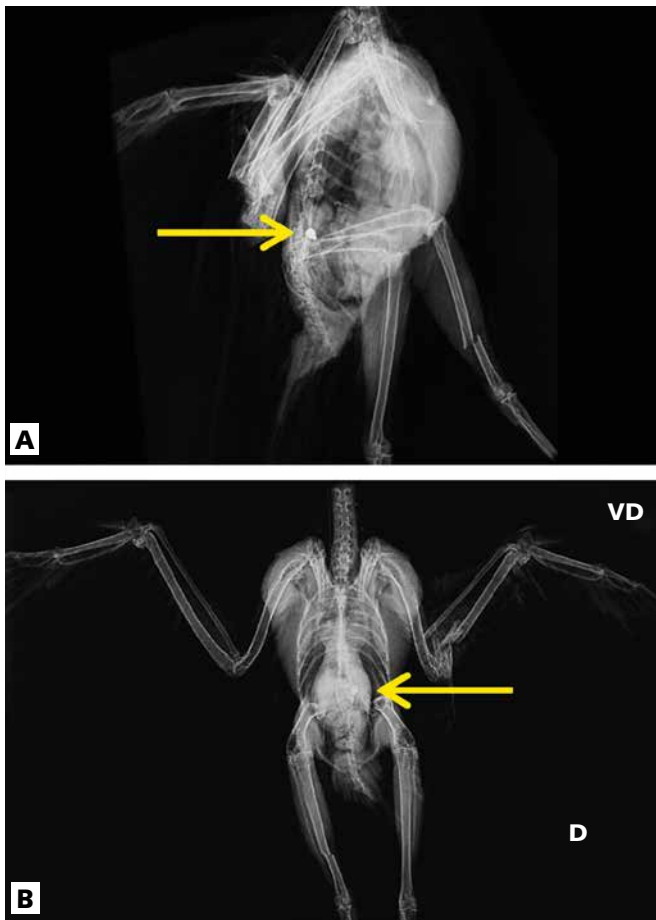


Figure 1 - Radiograph image of Yellow-headed caracara (*Mivalgo chimachima*). (A) laterolateral positioning. Transversal fracture in left tibiotarso and presence of projectile (arrow) in coelomic cavity. (B) Ventrodorsal positioning. Transversal fracture in left tibiotarso,

comminuted fracture in right radio-ulna and presence of projectile (arrow) in coelomic cavity.

Source: Serviço de Diagnóstico por Imagem, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) – Unesp Jaboticabal.

Based on clinical and radiographic findings it was decided to perform osteosynthesis with intramedullary pin in radioulna and tibiotarso under inhalator anesthesia. The animal recovery from anesthesia, but died in the next day. The necropsy revealed pale organs probably due to the extensive blood lost and presence of a projectile between the cranial and medial poles of right kidney, with few clots around the projectile (Figure 2).

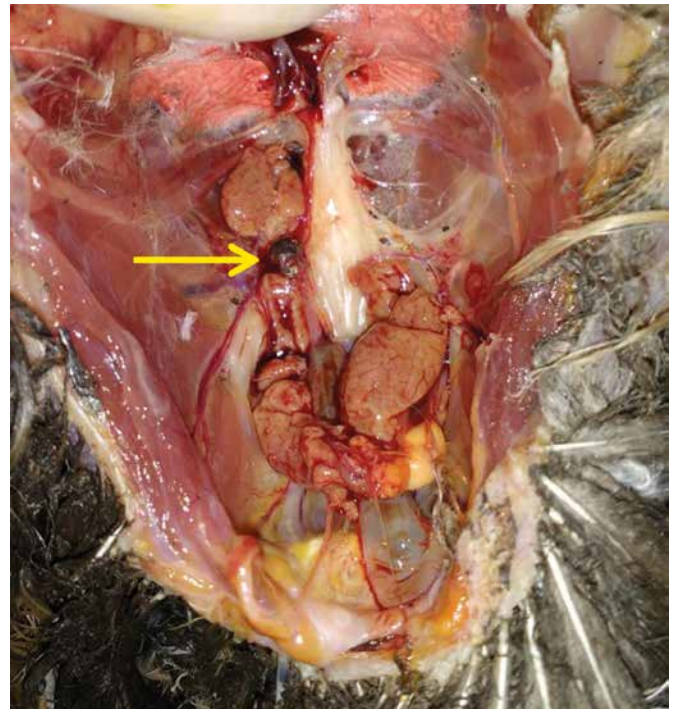


Figure 2 - Presence of projectile (arrow) in coelomic cavity between the cranial and medial poles of right kidney, with few clots around the projectile.

Source: Serviço de Medicina de Animais Selvagens, FCAV – Unesp Jaboticabal.

Discussion and conclusion: Studies related to poaching in birds by gunshot, rate of death and their effects including heavy metal intoxication in Brazil are scars (INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE, 2008). In some places in Brazil, birds of prey, mainly owls, are associated with bad luck.

These fact leads to animal abuse, especially illegal hunting. Educational programs showing the environmental importance and the hole of birds of prey should be reinforced. The laws applied to these subjects must be considered and other mitigating measures in place to protect these animals should be maintained and reinforced to optimize the health of raptor populations.

References

BRASIL. Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 13 fev. 1998. Seção I, p. 25-29.

DEEM, S. L.; TERRELL, S. P.; FORRESTER, D. J. A retrospective study of morbidity and mortality of raptors in Florida: 1988–1994. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 29, n. 2, p. 160-164, 1998.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio). **Plano de ação nacional para a conservação de aves de rapina**. Brasília, DF: ICMBio, 2008. 136 p. (Série Espécies Ameaçadas, 5)

PUNCH, P. A retrospective study of the success of medical and surgical treatment of wild Australian raptors. **Australian Veterinary Journal**, Carlton, v. 79, n. 11 p. 747-752, 2001.

WENDELL, M. D.; SLEEMAN, J. M.; KRATZ, G. Retrospective study of morbidity and mortality of raptors admitted to Colorado State University Veterinary Teaching Hospital during 1995 to 1998. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 38, n. 1, p. 101-106, 2002.

DETECTION OF FRAUD IN CANNED TUNA

RODRIGUES, M. V.^{1,2}; FERRI, Y. G. ¹; CERON, T. F.; SGARBOSA, S. H. P. V.¹

¹ Universidade Paulista (Unip), Campus Bauru. E-mail: mvazrodrigues@gmail.com.

² Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp), campus Botucatu.

Introduction: Canned tuna is defined as a product made with tuna, packaged in hermetic way, followed by sterilization to avoid contamination and multiplication by microorganisms, beyond to propitiate integrit until the end of shelf life of the product. For this

product processing, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) published the Normative Instruction 46 of December 15th of 2011, which regulates the production of canned tuna in Brazil (BRASIL, 2011). Thus, fraud occurs for substitution of fish species not allowed by legislation. This study aimed standardize the detection of fraud in tuna canned by polymerase chain reaction (PCR) and real time PCR (qPCR). **Methods:** The samples were constituted of canned tuna from seven different factories, in the following presentation: solid, piece, grated, in oil, in natural, light, and in tomato sauce, comprising 27 samples. The previous treatment of the samples for PCR and qPCR were performed as described by Chapella *et al.* (2007). DNA extraction was made using Wizard® SV Genomic DNA Purification System (Promega®) kit, according to manufacturer's instructions. As internal control, we used primer for beta-actin gene designed in laboratory. **Results:** Of 27 samples analyzed, only one not amplify by PCR, showing the tuna absence (Figure 1). For qPCR 4 samples were considered as containing only tuna, 6 with low concentration of tuna, and 17 with high concentration of other kind of fish.

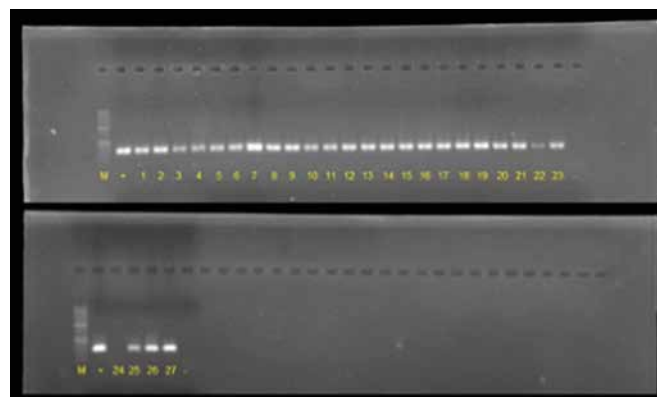


Figure 1 - Product amplification of 100 bp. M: Molecular weight of 100 bp. 1-27: canned tuna. +: Positive control. -: Negative control.

Source: Personal file.

Discussion: In the obtained Results, only 15% of the samples were considered as containing only tuna, which elucidates fraud in the others products. Considering that the product must have credibility and guarantee the rights and food safety for consumers (BARBOSA, 2016), the method applied could be an instrument for fraud detection in canned tuna.

References

BARBOSA, J. M. Fraudação na comercialização do pescado. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, São Cristóvão, v. 3, n. 2, p. 89-99, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº 46 de 15 de dezembro de 2011. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 16 dez. 2011. Seção 1, p. 25-26.

CHAPELA, M. J. *et al.* Comparison of DNA extraction methods from muscle of canned tuna for species identification. **Food Control**, Guildford, v. 18, n. 10, p. 1211-1215, 2007.

CHROMOSOMAL ANALYSIS OF CHELONOIDIS CARBONARIA AND CHELONOIDIS DENTICULATA KEPT IN CAPTIVITY

MOTA, L. S. L. S.¹; CAMPOS, M.²; LAUDARI, L. E.³; SANTILONI, V.⁴; CABRAL-DE-MELLO, D. C.⁵; TEIXEIRA, C. R.⁶

¹ Supervisor and PhD of Genetics Department, Instituto de Biociências, Universidade Estadual de São Paulo (Unesp), Botucatu/SP, Brazil. E-mail: lmota@ibb.unesp.br.

² Undergraduate student of Biological Sciences, Instituto de Biociências, Unesp, Botucatu.

³ Graduate student of Biological Sciences, Instituto de Biociências, Unesp, Botucatu.

⁴ Technical support of Genetics Department, Instituto de Biociências, Unesp, Botucatu.

⁵ PhD of Biology Department, Instituto de Biociências, Unesp, Rio Claro.

⁶ PhD of Surgery and Veterinary Anesthesiology Department, FMVZ, Unesp, Botucatu.

Introduction: Chelonians, an order of the class *Reptilia* are mostly long lived animals with relatively small capacity for rapid population growth (POUGH; HEISER; MCFARLAND, 1999). The most widely distributed genus is the *Chelonoidis*, which comprises 22 species found in South America, Africa, Asia and the Oceanic Islands. In Brazil, two species of turtles come from humid forests, the *Chelonoidis carbonaria* and *Chelonoidis denticulata*. The devastation and deforestation of these forests are pointed out as one of the reasons for species of this genus to spread and even mate with each other.

Hybrids may compete for resources with parental species, favored by “hybrid vigor” or, if they are fertile, have an impact on the genetic integrity of wild populations due to the potential risk of backcrossing with consequent introgression. Hybridization can pose a threat to small populations, even when the gene sets do not mix. There are records of hybrids involving species of the same suborder, with the genus *Trachemys* (JACKSON, 2010). In order to provide subsidies for the improvement of sustainable biological management and conservation programs as well as for future projects to be developed with chelonians, this work aimed the characterization of the karyotypes by means of conventional staining, chromosome banding and mapping of some repetitive DNAs in two *Chelonoidis* kept in captivity. **Methods and Materials:** This work analyzed 28 specimens of the genus *Chelonoidis* kept in captivity at the Wildlife Medicine and Research Center from Botucatu/SP and at the Municipal Ecological Park from Americana/SP, Brazil. The morphological characterization between the two species was carried out according to Siqueira, Silva and Moral (2004). The material collection was performed in order to provide the lowest possible risk to the physical integrity of the animal. For the cytogenetic analyzes, samples of 3 mL of peripheral blood were obtained by puncturing the caudal vein. To obtain metaphase chromosomes, it was applied the technique described by Moorhead *et al.* (1960). The banding techniques employed included C-banding by Sumner (1972), the sequential staining CMA₃/DA/DAPI by Schweizer *et al.* (1983) and Ag-NOR-banding by Rufas *et al.* (1987). In addition, slides were submitted to the fluorescence *in situ* hybridization (FISH) procedure employing the 18S rDNA and telomeric motif (TTAGGG)_n as probes. The 18S rDNA probe was obtained from the genomic DNA of *C. carbonaria* using the protocol by Sambrook and Russel (2001). The Polymerase Chain Reaction (PCR) was performed by using the primers Sca18SF and Sca18SR (CABRAL-DE-MELLO; MOURA; MARTINS, 2010). Telomeric probe was obtained by PCR using the complementary primers (TTAGGG)₅ and (CCCTAA)₅ according to (IJDO *et al.*, 1991). The procedures and animal handling were authorized by the Ethical Committee for Animal Research of the São Paulo State University (Unesp), Brazil (protocol 217/10-CEEA). **Results:** By means of morphological analyzes, 20 specimens were defined as *C. denticulata* and eight as *C. carbonaria*.

Five metaphases from each animal were analysed with standard Giemsa staining. The karyotype of *C. denticulata* presented eight pairs of macrochromosomes (MACs) of submetacentric and metacentric morphology (A); six pairs of MACs of acrocentric and telocentric morphology (B); 12 pairs of microchromosomes (MICs) (C) (Figure 1). For the *C. carbonaria*, the karyotype presented nine pairs of MACs of submetacentric and metacentric morphology (A); five pairs of MACs of acrocentric and telocentric morphology (B); 12 pairs of MICs (C) (Figure 1). The presence of MICs as well as the absence of heteromorphic sex chromosomes is quite common in this group of vertebrates.

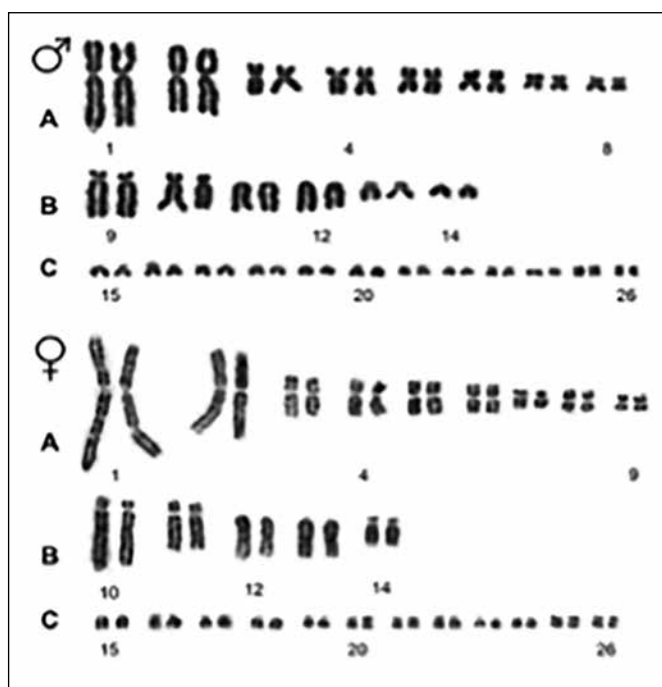


Figure 1 - Karyotype of *Chelonoidis denticulata* (male) $2n=52$, 8:6:12 and karyotype of *Chelonoidis carbonaria* (female) $2n=52$, 9:5:12.

Source: Personal file.

Differential chromosomal analysis and mapping of repetitive DNA sequences were performed on *C. carbonaria* specimens. The C-banding technique allowed the identification of small constitutive heterochromatin blocks located in the centromeric regions of almost all chromosomes. Moreover, an additional heterochromatic block was observed in one of the arms of a pair of MICs that probably corresponds to the rDNA sites (Figure

2a). CMA₃ positive blocks were observed, besides in the centromeric heterochromatin, in the terminal region of some chromosomes, including a large block in a MIC pair, which probably correspond to the rDNA site (Figure 2b). DAPI staining did not revealed signals (Figure 2c). The 18S rDNA was located in a MIC pair, like observed under silver nitrate analysis, that located the NORs (Figure 2d, 2e). Telomeric probe revealed terminal sites corresponding to telomeres. Additionally, in a pair from Group B, centromeric labeling corresponding to ITS (Internal Telomeric Sequence) regions was observed, suggesting occurrence of chromosomal rearrangement or occurrence of heterochromatin rich in TTAGGG sequence (Figure 2f).

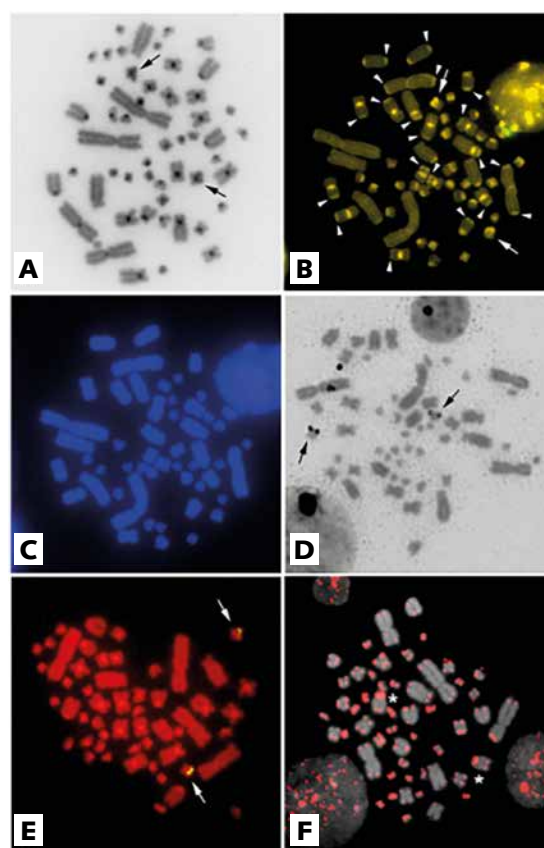


Figure 2 - Metaphase of *Chelonoidis carbonaria* differentially stained (A-D) and hybridized with repetitive DNA probes (E, F). (A) C-banding, (B) CMA₃, (C) DAPI, (D) Ag-NOR, (E) 18S rDNA, (f) Telomeric sequence. The arrows in (A, B, D, E) indicate the pair harboring NORs and the arrowheads in (B) indicate some terminal CMA₃⁺ blocks.

Source: Personal file.

Discussion and conclusion: The diploid number observed for the two species were also observed in some species from the same genus. On the other hand, the quantity of MACs and MICs and chromosomal morphologies differs between species, suggesting chromosomal reorganization in the genus. It is evident in the two species studied here, in which the number of chromosomes of group A and B are different. For wild animals, the cytogenetics analysis reflect a more descriptive aspect describing chromosomal number and morphology, identification of possible chromosomal markers and applications of staining techniques. The present study revealed that it is possible to study the karyotype of chelonians using economical and viable protocols without harming the animal and preserving it in its own habitat. However, in programs aimed at the reproduction of these animals, it is necessary to identify the species correctly, in such a way that their genetic patrimony could be preserved and not decharacterized by hybridization.

References

- CABRAL-DE-MELLO, D. C.; MOURA, R. C.; MARTINS, C. Chromosomal mapping of repetitive DNAs in the beetle *Dichotomius geminatus* provides the first evidence for an association of 5S rRNA and histone H₃ genes in insects, and repetitive DNA similarity between the B chromosome and A complement. *Heredity*, London, v. 104, n. 4, p. 393-400, 2010.
- Ijdo, J.W. *et al.* Improved telomere detection using a telomere repeat probe (TTAGGG)_n generated by PCR. *Nucleic Acids Research*, London, v. 19, n. 17, p. 4780, 1991.
- JACKSON, J. T. **Demography and population structure of a Rio Grande endemic Emydid the big bend slider.** 2010. 92 f. Dissertation (Doctor of Philosophy) – Texas State University, San Marcos, 2010.
- MOORHEAD, P. S. *et al.* Chromosome preparations of leukocytes cultured from human blood. *Experimental Cell Research*, New York, v. 20, n. 3, p. 613- 616, 1960.
- POUGH, F. H.; HEISER, J. B.; MCFARLAND, W. N. **A vida dos vertebrados.** 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1999.
- RUFAS, J. S. *et al.* Chromosome organization in meiosis revealed by light microscope analysis of silver-stained cores. *Genome*, Ottawa, v. 29, n. 5, p. 706-712, 1987.
- SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. W. **Molecular cloning:** a laboratory manual. 3. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- SCHWEIZER, D. *et al.* Cytogenetics of the parthenogenetic grasshopper *Warramaba virgo* and its bisexual relatives. X. Pattern of fluorescent banding. *Chromosoma*, Berlin, v. 88, n. 3, p. 227-236, 1983.
- SIQUEIRA, C. A. F.; SILVA, J. A. S.; MORAL, F. A. F. Análise de marcadores morfológicos efetivos na diferenciação de espécies de *Geochelone* (Fitzinger, 1835) no criadouro Univap. In: ENCONTRO LATINO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 8.; ENCONTRO LATINO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 4., 2004, São José dos Campos. *Anais...* São José dos Campos: Univap, 2004. p. 124-126.
- SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, New York, v. 75, n. 1, p. 304-306, 1972.

CRIMINALISTICS IN VETERINARY MEDICINE. CLASS WITH GRADUATE STUDENTS

FRIEDRICH, N. O.¹; JIMENEZ LUCENA, M. A.²; MIÑO, T.³

¹ Mg Sp Médica Veterinaria. Titular Cátedra Medicina Veterinaria Legal (Legislación) de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, carrera Medicina Veterinaria. Universidad Católica de Córdoba (UCC), Argentina. E-mail: noe655@yahoo.com.ar.

² Mg Lic. en Derecho. Adjunta Cátedra Medicina Veterinaria Legal (Legislación) de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, carrera Medicina Veterinaria. Universidad Católica de Córdoba (UCC), Argentina.

³ Médico Veterinario. Prof. invitado Cátedra Medicina Veterinaria Legal (Legislación) de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, carrera Medicina Veterinaria. Universidad Católica de Córdoba (UCC), Argentina.

Introduction: The Chair of Legislation of the Catholic University of Cordoba, Argentina, in the unit: Veterinary Legal, implemented as an organizational teaching modality: practical classes carried out in the field, on the theme scene of crime scene. The purpose of these classes is to contribute and to obtain competences in academic knowledge related to the forensic sciences and their ethical application in legal causes; instruct the veterinarian to act as an expert in the face of judicial or extrajudicial requirements, incorporate

basic legal, legislative concepts; notions of criminology, tanatology, entomology and lesionology; acquire: skills and abilities, intellectual, interpersonal communication, organization and personal management; attitudes, values of development and professional commitment. **Materials and Methods:** The equipment consists of: 1) Clothing and elements of biosafety. 2) Writing, signaling, measuring and sampling elements. 3) Optical, light, image and sound pickup devices; instrumental and basic tools. The teaching method is previous expository. The organizational modality gives preference to cooperative learning. We work in groups with an assigned case. The resource used is the assignment of roles. Adequate elements are provided to simulate a criminal event with the presence of anatomical remains and simulated biological evidence. Guidance documentation is available to make sense of the chain of custody. On the assigned day the number of students is considered. The working groups are formed. It determines the roles that each one will fulfill and their functions.

Table 1 - Roles and number of students.

| Order number | Roles | Quantity | Quantity | Quantity |
|--------------|-------------------------------------|----------|----------|----------|
| 1 | Group coordinator | 1 | 1 | 1 |
| 2 | Security Officer-Police | 1 | 2 | 2 |
| 3 | Attorney / Judge | 1 | 1 | 1 |
| 4 | Veterinarian | 1 | 1 | 1 |
| 5 | Criminalist / ballistics | 1 | 1 | 1 |
| 6 | Criminalist / traces and footprints | 1 | 1 | 1 |
| 7 | Fotógrafo forense | 1 | 1 | 1 |
| 8 | Planimetra | 1 | 1 | 1 |
| 9 | Forensic Laboratory | 1 | 2 | 2 |
| 10 | External Assistant | 1 | 1 | 2 |
| 11 | Witnesses | 2 | 2 | 2 |
| | Total per group | 12 | 14 | 15 |

Source: Noemi O. Friedrich.

The teacher acts as general coordinator. The task: 1. Determination of crime scene. 2. Site protection. 3. Assurance. 4. Initial acts. 5. Adoption of measures in case of injured or deceased animals. 6. Methods by patterns, advised to enter the place and search for traces, traces or signs. 7. Eye inspection. 8. Methods of fixation: written description, sketches, plans, photography. 9. Collection of items, footprints, traces or signs. Chain of custody. 10. Marking and registration. 11. Manipulation

of common articles of organic and inorganic evidence. Packaging. Labeled. Preservation. 12. Liberation of the place. The participation of the students is supervised from the beginning, the course and the end of the task, using the score from 1 to 10. A direct observation of attitudes and behaviors is carried out. In turn, a general review is made by means of photography and filming. It is considered: 1. Use of appropriate clothing and biosecurity elements. 2. Predisposition for teamwork. 3. Skills demonstrated. 4. Answers to relevant questions. 5. Attitudes of respect and tolerance. In the evidence collected, it is considered: presentation, conservation and disposal of consignments to specific assumptions; preparation and presentation of minutes, sample forms, graphs, drawings, diagrams and reports requested in a timely manner. **Results and Discussion:** It was verified that students prefer to wear their own protective clothing, they are adapted to the requirement of the use of protection elements, (Figure 1). Predisposition for teamwork (Figure 2). Take measurements, draw sketches and maps, take photographs. They demonstrate interest and skill in the proposed tasks (Figure 3).



Figure 1



Figure 2



Figure 3



Figure 4



Figure 5



Figure 6

Source: Noemi O. Friedrich.

In the evidences collected, the presentation, lifting (Figures 4 and 5), conservation and disposal of samples (Figure 6) are respected. Preparation and presentation of minutes, forms, samples, graphs, drawings, diagrams and reports requested in a timely manner. Attitudes of respect among peers, Discussion: of the techniques to be used and joint

decisions. Questions pertinent to the tasks. Advantages:

1. It allows the student to carry out controlled activities in which he must apply to specific situations both the knowledge he possesses and, in this way, to secure them and acquire others, such as to put into practice a series of basic and procedural skills related to the subject matter Study that would not be possible to develop in other modalities.
2. It facilitates the training in the resolution of concrete problems and establishes a first connection with the reality and with activities that arise in the professional work.
3. Depending on its typology and approach, both self-employment and group work are promoted.

Inconveniences to consider:

1. Organizational issues, it is necessary to have groups that work simultaneously.
2. It requires specific spaces, adequate equipment and auxiliary personnel.
3. The planning and evaluation of students' work and activities are an extra task for the teacher.
4. When dealing with activities developed in controlled environments and linked to a subject, artificial situations arise.

Conclusion: In this type of practical classes, in addition to the characteristics common to all of them, in terms of their organization and development, they usually have a certain peculiarity in terms of their programming since they can be developed in sessions of several hours. The common characteristics is the formation of groups of medium or small size require the presence of the teacher and the students working in unison. Competence in basic academic knowledge related to the forensic sciences, with the intervention of juridical concepts, notions of criminology, tanatology, entomology and lesionology, is acquired, specific skills are acquired at each stage of the process. It is important to emphasize the incentive to interpersonal communication, to the organization and personal management; to the generation of attitudes, values of development and professional commitment.

References

- ALBARRACIN, R. **Manual de criminalística**. 2. ed. Buenos Aires: Editorial Policial, 1975.
- ALONSO TAPIA, J. ¿Qué podemos hacer los profesores universitarios para mejorar el interés y el esfuerzo de nuestros alumnos por aprender? In: ESPANHA. Ministerio de Educación y Cultura. **Premios nacionales de investigación educativa**, Madrid: Secretaría General Técnica, 1998. p. 151-187. (Colección Investigación, 142).
- ARGENTINA. Ministerio de Justicia y Derechos Humanos de la Nación. **Manual de procedimiento para la preservación del hecho y la escena del crimen**: Programa Nacional de Criminalística. Buenos Aires: Comisión de Trabajo en Criminalística, 2014. 63 p.
- OLIVA, A. Insectos de interés forense hallados en Buenos Aires, Argentina. **Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales**. Entomología, Buenos Aires, v. 7, n. 2, p. 13-59, 1997.
- RAFFO, O. H. **La muerte violenta**. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires, 2006. 240 p.
- ANIMAL CRUELTY IN CAT: CASE REPORT**
- MONTEIRO, J. H.¹; MATSUI, A.²; CUEVAS, S. E.³; HONRADO, S. A.⁴; VASCONCELOS, R. O.⁵; MOREIRA, P. R. R.⁵
- ¹ Veterinary Anatomic Pathology Resident, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária (FCAV), Universidade Estadual Paulista (Unesp). E-mail: julio_edward@hotmail.com.
- ² Postgraduate Student, Veterinary Pathology Department, FCAV, Unesp.
- ³ Postgraduate Student, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP).
- ⁴ Medicine Veterinary Student, Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa (FMV).
- ⁵ Professor in Veterinary Pathology Department, FCAV, Unesp – Campus de Jaboticabal/SP.
- Acts of cruelty against animals are considered a crime according to the Environmental Crimes Law, art. 32 (BRASIL, 1998). Abuse of cats is common and is practiced mainly by intentional exogenous intoxication and also by traumas (MARLET; MAIORKA, 2010; SIQUEIRA *et al.*, 2012), in which blunt injuries are the most commonly observed (MUNRO; MUNRO, 2008; MCEWEN, 2012; CUEVAS *et al.*, 2016). Forensic veterinary pathology is extremely important in cases of animal cruelty, not only to determine the animal's cause of death, but also to help to differentiate between accidental and non-accidental lesions (MERCK *et al.*, 2013). This is an important tool of forensic veterinary medicine, due to the legal potential of these types of cases. Therefore, this study aims to describe the lesions found in a cat killed in a cemetery, called "Cemitério da Saudade", in Ribeirão Preto/SP, Brazil, with suspected abuse. A female, uncastrated, mixed breed cat and black

hair was found dead in the “Cemitério da Saudade”, located in the city of Ribeirão Preto/SP, Brazil. The municipal institution responsible for animal welfare sent the animal’s carcass to necropsy, after a series of episodes that resulted in the death of 27 cats within less than a month (June / 2016). According to information published in the media (News, magazines promoted by the city or by the capital of the state), the animals were found without organs (heart or lung), with the thorax opened, without the thoracic and/or pelvic limbs or without the head. At necropsy, the feline presented cyanotic oral, ocular and vulvar mucosae, presence of blood in the left nostril, and multiple lacerated and reddish cutaneous lesions located in the ventral cranial region of the scapula (2.0 x 1.0cm), in ventral cervical region (3.5 x 0.8cm), close to the right caudal thoracic (1.0 x 0.3cm) and right lateral thoracic region (5.5 x 0.6cm). At the initial incision of the carcass, extensive subcutaneous hematomas were located in the ventral cervical regions (9.5 x 9.0cm) and extended throughout the dorsal cervical region, as well as, from the first to the fourth right ribs and from the first to the third left ribs. Rib’s fractures presence was associated with subcutaneous tissue and intercostal muscles hematomas. In the musculature adjacent to the sternum were noted extensive hematomas, also observed in the abdominal wall, with multifocal distribution and associated with local laceration of the musculature. There was evisceration of the omentum in these areas, which was covered with crude blood clots. In the thoracic cavity was noted discrete hemothorax and there was an extensive hematoma in trachea and esophagus external wall. The lungs had multiple reddened areas (hemorrhage), located in the cranial and caudal lobes. At skull opening, hematoma was noted in the musculature of the occipital and left parietal region. After muscle tissues removal, a fracture was noted in the bones of the skull in the same regions. The encephalon presented congestive vessels and multifocal hemorrhage in the meninges. The lesions observed in this case report are classified as blunt injuries. Blunt lesions, according to Vanrell (2009) are provoked by a forceful instrument able of promoting continuity solutions and lacerations, of moderate extension, in soft tissues, blood vessels, viscera and osteoarticular structures. In general, these lesions are caused by pressure, compression, decompression, distension, twisting, dragging or in a mixed manner and suffer an incredible

variation (COUTO, 2011). Contused wounds cause less bleeding comparing to other type of lesions, such as incisional wounds, since the compression induced by the method or instrument, crushes vessels’ lumen, causing a traumatic hemostasis and hematomas (SILVEIRA, 2012). An investigation performed between the year of 1998 and 2012, by FMVZ – USP’s (SP) Veterinary Pathology Service, with cats victims of animal cruelty, was verified that in 54% of the cases the lesions were caused by blunt force trauma (SIQUEIRA *et al.*, 2012). In cases of animal cruelty suspicion, it is imperative to perform a detailed and documented necropsy, characterizing the lesions found and ascertaining the animal’s cause of death. The veterinary pathologist plays an extremely important role in the field of forensic veterinary medicine, from the analysis of the evidence of a crime to the preparation of a necropsy report, considered as crucial proof in juridical cases.

References

- BRASIL. Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 13 fev. 1998. Seção I, p. 1-5.
- SIQUEIRA, A. *et al.* Non-accidental injuries found in necropsies of domestic cats: a review of 191 cases. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 14, n. 10, p. 723-728, 2012.
- COUTO, R. C. **Perícias em medicina e odontologia legal**. Rio de Janeiro: MedBook, 2011.
- CUEVAS, S. E. C. *et al.* Lesões não acidentais em gatos domésticos: estudo de 90 necropsias relativas a traumas produzidos por energia de ordem mecânica. **Clínica Veterinária**, São Paulo, n. 121, p. 80-87, 2016.
- MARLET, E. F.; MAIORKA, P. C. Análise retrospectiva de casos de maus tratos contra cães e gatos na cidade de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 5, p. 385-394, 2010.
- MUNRO, R.; MUNRO, H. M. C. Wounds and injuries. In: _____. **Animal abuse and unlawful killing: forensic veterinary pathology**. Edinburgh: Saunders Elsevier, p. 30-47, 2008.
- MUNRO, H. M.; THRUSFIELD, M. V. ‘Battered pets’: non-accidental physical injuries found in dogs and

cats. **Journal of Small Animal Practice**, v. 42, n. 6, p. 279-90, 2001.

MERCK, M. D. *et al.* Blunt force trauma. In: MERCK, M. D. **Veterinary forensics: animal cruelty investigations**. 2.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2013. p. 97-121.

MUNRO, R.; MUNRO, H. M. C. Wounds and injuries. In: _____. **Animal abuse and unlawful killing: forensic veterinary pathology**. Edinburgh: Saunders Elsevier, 2008. p. 30-47.

SILVEIRA, P. R. Traumatologia médico-legal. **Revista de Criminologia e Ciências Penitenciárias**, São Paulo, v. 2, n. 3, 34 p., 2012.

SIQUEIRA, A. *et al.* Non-accidental injuries found in necropsies of domestic cats: a review of 191 cases. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, London, v. 14, n. 10, p. 723-728, 2012.

VANRELL, J. P. **Odontologia legal e antropologia forense**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

INJURIES IN A DOG ASSOCIATED WITH A PERFURO-CUTTING INSTRUMENT: CASE REPORT

MONTEIRO, J. E. H.¹; MATSUI, A.¹; LUZZI, M. C.¹; VASCONCELOS, R. O.¹

¹ Faculty of Agrarian and Veterinary Sciences, Universidade Estadual Paulista (Unesp). E-mail: julio_edward@hotmail.com.

Legal veterinary medicine or forensic veterinary medicine is a specialty recognized by resolution n° 756/2003 of Veterinary Medicine Federal Council, which deals with the application of veterinary medicine knowledge for the purposes of law and justice (ARNS; REIS, 2011). This resolution is not recent, and it has been established in the Brazilian constitution since 1933, describing that in judicial issues involving animals as an exclusive veterinarian function (SABES; GIRARDI; VASCONCELOS, 2016). However, there are few veterinarians working in this field, leaving space to other professionals and leading to a lack of scientific material production (REGO, 2003; MERCK, 2007). Forensic traumatology is the branch of legal medicine that studies the injuries caused by materials or moral nature, harmful to the body, physical or mental health (CROCE; CROCE JÚNIOR, 1998). The lesions are divided into mechanical, physical, chemical, physicochemical and biodynamic energies

(DEL CAMPO, 2009). The mechanical action energies act on the body and modify its state of rest or movement, resulting in injury. They can act in different ways according to the agents who carry them. The lesions can be produced by the action of the instrument on the body, by the action of the body on the instrument or by a combination of them, when one acts on the other (DEL CAMPO, 2009). The instruments that cause the lesions, according to the contact surface, the mode of action and the characteristics of the lesions generated are classified as: simple action (perforating or puncturing, sharp and forceful) and composite action (piercing, piercing and punctuating) (DEL CAMPO, 2009). Lesions generated by perforating mechanical energies result in a linear path continuity solution with an exit orifice of smaller diameter than the input. Cutting instruments cause incised lesions that have greater depth at the original point, smooth and regular margins. Blunt instruments can generate different types of injuries: ecchymosis and hematoma, excoriation, brain concussion and contusion, bone contusion, bone fractures, dislocations and sprains. Sharpening instruments cause puncture incisional lesions are deeper than wide, the shape and the course of the lesion allow to define which instrument was used. These instruments generate puncture-related injuries, such as those generated by firearm projectiles. Short-term injuries are called short-cuts and act by pressure exerted on a line and are influenced by the weight action of the instrument used or by the force of the person who manipulated it (SABES; GIRARDI; VASCONCELOS, 2016). This paper aims to report a case of sharp injury in a dog, and the importance of veterinary medicine expertise to elucidate cases of mistreatment against animals. The corpses of a 10-year-old male dog was referred for necropsy examination and, according to the owner, the dog had free access to the street. The animal was in good condition, and received treatment with Phenobarbital until the day before the death. The animal was found in lateral decubitus and agonizing in front of neighbor's house, it was also noticed several cuts and accentuated amount of blood flowing through the nostrils. In the necroscopic examination, it was noticed pale oral, ocular and penile mucosa, a focal area of excoriation in the abdomen, and left flank of 8.0cm in length. In addition, several puncture-sharp lesions were observed, two parallel to the right thoracic region and measuring 0.5cm in diameter. The other two were

seen in topography of coxal bone and measured 0.8cm. In the cervical region two puncture-cutting lesions of 0.8cm in diameter were noted, and on the right lateral side there were two parallel perforate-cutting lesions of 0.6 x 0.4 and a subcutaneous hematoma.

In the left lateral cervical region there was a perforate-dilacerating lesion (1.5cm in diameter). And in the topography of the atlanto-occipital joint another lesion that mediates 4.5 X 2.5cm, with exposure of muscular layer. During the opening of the corpses it was noted a hematoma in musculature and in the subcutaneous tissue of the abdominal area and in the adjacent area to the jugular vein, diffuse hemorrhage in submandibular regions, costal gradil and left flank. No similar lesions were seen in internal organs. The necropsy findings suggest that the death was caused by hypovolemic shock (hemorrhage) caused by secondary bleeding to puncture-sharp lesions generated by a piercing-cutting object as described by Del Campo (2009) and Sabes, Girardi and Vasconcelos (2016). In human medicine the medical traumatology studies the injuries produced by violence on the human body. There are numerous determinations and points to be evaluated in cases of a criminal death. Veterinary medicine still lacks further studies and literature concerning cases of animal abuse. The present investigation emphasizes some of these points, such as the need to standardize the language to be used in a medical-veterinary expert report.

References

- ARNS, E. M. G. C.; REIS, S. T. J. Medicina veterinária legal como especialidade médico veterinária. In: ARNS, E. M. G. C.; PASQUALIN, C. A. **Orientações ao médico veterinário: manual de direitos e deveres**. Curitiba: Sindicato dos Médicos Veterinários no Estado do Paraná, 2011. p. 50.
- CROCE, D.; CROCE JÚNIOR, D. **Manual de medicina legal**. São Paulo: Saraiva, 1998.
- DEL CAMPO, E. R. A. **Medicina legal I**. 6. ed. São Paulo: Saraiva, 2009.
- MERCK, M. C. S. I.: the animal as evidence. In: _____. **Veterinary forensics: animal cruelty investigations**. Iowa: Blackwell Publishing, 2007. p. 31-56.
- REGO, A. A. M. S. **Introdução à medicina veterinária legal**. 2003. 34 p. Apostila.
- SABES, A. F.; GIRARDI, A. M.; VASCONCELOS, R. O. Traumatologia forense: revisão de literatura. **Nucleus Animalium**, Ituverava, v. 8, n. 2, p. 63-74, 2016.

POST-VACCINATION DEATH IN A MALFORMED CAT: CASE REPORT

PESSOA, A. W. P.¹; PIMENTEL, S. P.²; SOUSA, F. C.¹; MATOS, M. G.²; VIANA, D. A.³; LOPES, C. E. B.²; RODRIGUES, F. R. N.²

¹ Professor of Animal Pathology, MSc, DSc, Universidade Estadual do Ceará (Uece). E-mail: adriana.wanderley@uece.br.

² Undergraduate student of Veterinary Medicine (Uece).

³ Professor of Animal Pathology, MSc, DSc (Uece) and Technical Scientific Director of Laboratório de Anatomia Patológica e Patologia Clínica S/S LTDA (Pathovet) (<http://www.pathovet.com.br>) – Fortaleza.

Introduction: Diaphragmatic hernia is a condition in which there is displacement of the abdominal viscera into the thoracic cavity. This condition can be acquired or congenital. In most cases, it is a condition acquired through a traumatic process. Congenital diaphragmatic hernia is a malformation whose reason is unknown, and symptoms usually appear before the first year of life and may lead to death, however, some may remain asymptomatic for life. Macroscopically, there is a communication between the thoracic cavity and the abdominal cavity through an opening in the diaphragm. The differentiation between congenital and traumatic diaphragmatic hernia is delicate and not always possible. It is based on anamnesis, in the presence or absence of trauma, in clearly traumatic lesions of the diaphragm, mainly in the coexistence of two or more holes in one of its sides, in the presence or absence of visceral or vascular anomalies, and others. The macroscopic aspect of the orifice and the histological examination of the borders are not very reliable, since in old traumatic hernia there may be no tissue reaction and in congenital hernias, frequent visceral transit, irritating the edges or compressing by strains, can trigger an inflammatory reaction. The differentiation between congenital and traumatic leading to forensic consequences may represent the primary cause of death or be ancillary causes of death. Forensic necropsy is a practice that aims to determine the cause of death of the animal

and is considered a fundamental instrument for the investigation of cases with legal potential. This work aims to report a case, with legal potential, of an animal that died in a vaccination campaign and that after necroscopic examination it was verified the presence of malformations, including congenital diaphragmatic hernia. **Materials and Methods:** On October 02, 2013, a female, undefined female feline aged six to 10 years died at the time of rabies vaccination. This showed nervous behavior and urinated during application. Vaccine validity was within the period of use established by the manufacturer. Vaccine application's route was subcutaneous. On the same day, no other vaccines were applied. The animal had been vaccinated against rabies in November of the previous year. The corpse was referred to the Laboratório de Patologia e Medicina Legal Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (LPMLV). A modified technique of a veterinary necropsy protocol from the Armed Forces Institute of Pathology (AfiP) was used (2011) to perform the post-mortem examination and a photographic record of the necropsy findings was performed simultaneously. **Results:** On the external body's examination, it was observed that the animal had adequate body scoring for the species, ocular and oral mucous normocorated, the latter with clues of chronic periodontitis evidenced by areas of haemorrhage and dental artery with hypodeveloped dentition (upper and lower incisors) (Figure 1-A). The internal examination revealed incomplete development of the diaphragmatic muscle (Figure 1-B) culminating in his discontinuity and consequently forming the diaphragmatic hernia condition. Other important findings included trachea with partial duplication from its proximal third. In the distal portion, each branch only communicated with a single lung (Figure 1-C). The lungs showed marked congestion and multiples hemorrhages foci and was both compressed by abdominal viscera. The left lung was hypoplastic (Figure 1-D). Regarding the abdominal viscera, the spleen was anatomically displaced, located in the thoracic cavity, and had increased length evidenced by the development of nodular hyperplasia. The liver was also anatomically displaced, locating completely to the right of the midline. The organ was intensely congested, with friable consistency and irregular surface. Portions of the intestine were located in the thoracic cavity. There was also a presence of purulent contents inside the uterus, an organ with slightly thickened walls.

The causes mortis was attributed to respiratory insufficiency as a consequence of a probable anaphylaxis aggravated by the presence of congenital diaphragmatic hernia, double trachea and left pulmonary hypoplasia.

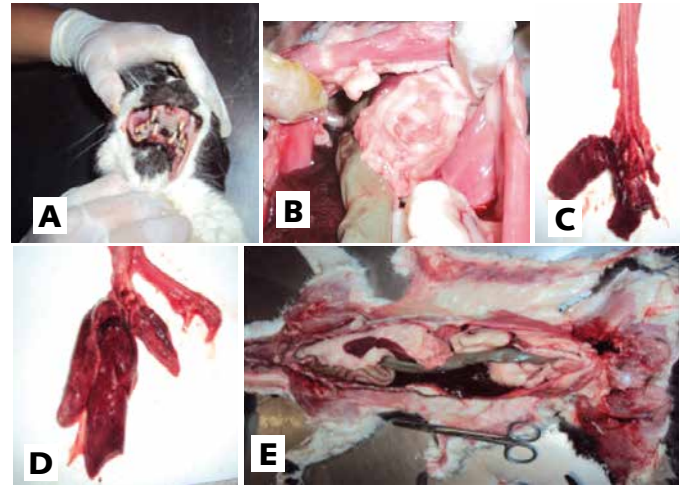


Figure 1 - Necroscopic examination. (A) Undeveloped upper and lower incisors. (B) Incomplete diaphragmatic muscle. (C) Trachea with two branches. (D) Hypoplastic left lung. (E) Abdominal viscera (spleen, omentum, portion of the intestine and liver) entering the thoracic cavity. Source: Laboratório de Patologia e Medicina Veterinária Legal da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (UECE).

Discussion: Congenital diaphragmatic hernia is an uncommon condition in small animals, but it's even more uncommon in adults. The presence of this anomaly allows the passage of abdominal viscera to the thoracic cavity, consequently leading to the compression of thoracic organs. This compression in the lungs is responsible for the development of hypoplasia and pulmonary hypertension. Due to the reduction of the left pulmonary parenchyma (hypoplasia) concomitant with the duplication of trachea (malformation not reported in the literature) of the animal in question, it infers that there was a significant reduction in the rate of hematosis, functionally overloading the right lung. Type I hypersensitivity, known as immediate or anaphylactic hypersensitivity, can be characterized as an acute and severe systemic reaction that affects several organs and systems simultaneously, being caused by the pharmacological activity of mediators released after activation of mast cells and basophils. The intensity of the release of these substances and the individual sensitivity determine the clinical repercussion of the

phenomenon. Several antigens are known for being responsible for anaphylactic reactions and anaphylactoid reactions, of which we can mention the vaccines. In reported case, the cat died after the vaccination procedure, suggesting that it was caused due to malpractice or anaphylaxis. Anaphylaxis affects the lungs causing bronchoconstriction, pulmonary hypertension, and systemic hypotension. As observed in the necroscopic exam, the animal presented malformations that affected the proper functioning of the respiratory system. With only one functional lung, the animal would rapidly initiate a respiratory failure if it suffered bronchoconstriction, and could suddenly die. **Conclusion:** The use of the necropsy technique as a tool to determine a cause of death and a correct interpretation of the findings are important for the elucidation of a case of legal interest.

References

- ANTUNES, A. A. A.; REIS, F. M.; MIRANDA, W. C. Sobre um caso de hérnia diafragmática espúria congênita em cão. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária*, São Paulo, v. 2, n. 3, p. 193-202, 1943.
- BERND, L. A. G. *et al.* Guia prático para o manejo da anafilaxia: 2012. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 53-70, 2012.
- BOETA, A. R.; ARCOS, L. G.; GONZÁLEZ, T. F. Hernia diafragmática peritoneopericárdica en el gato: caso clínico. *Clínica Veterinaria de Pequeños Animales*, Barcelona, v. 7, n. 4, p. 181-186, 1987.
- CUEVAS, S. E. C. *et al.* Papel da patologia forense veterinária na investigação de óbito sob circunstâncias desconhecidas de um cão. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP*, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 49, 2016.
- MAXIE, M. G (Ed.). *Jubb, Kennedy and Palmer's pathology of domestic animals*. 5. ed. Philadelphia: Elsevier, 2007. v. 3.
- PRADO, T. D. *et al.* Hérnia diafragmática em cães. *Enciclopédia Biosfera*, Goiânia, v. 9, n. 16, p. 1229-1241, 2013.
- SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. *Patologia veterinária*. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

TRAUMATIC EVISCERATION OF A KITTEN STRUCK BY A HIT AND RUN DRIVER: CASE REPORT

MATOS, M. G.¹; LOPES, C. E. B.²; PIMENTEL, S. P.²; PESSOA, A. W. P.²; RODRIGUES, F. R. N.²; VIANA, D. A.³

¹ Professor of Legal Veterinary Medicine, MSc, DSc, Universidade Estadual do Ceará (Uece). E-mail: adriana.wanderley@uece.br.

² Undergraduate Student of Veterinary Medicine (Uece).

³ Professor of Animal Pathology, MSc, DSc (Uece) and Technical Scientific Director of Laboratório de Anatomia Patológica e Patologia Clínica S/S LTDA (Pathovet) (<http://www.pathovet.com.br>) – Fortaleza.

Introduction: In legal medicine, it is a reality to correlate both medical and legal knowledge when in the interest of the Justice. Thus, the necropsy is understood as a technique to perform the practical evaluation of the corpse, being crucial to establish the definitive diagnosis, explain the different processes, and confirm or not the initial suspicions (BROWNLIE, 2016). In human legal medicine, a lot of hit and run cases are the reason for corpse evaluation. The investigation of hit-and-run road accidents is a special challenge to forensic medical examiners requiring a multiskilled approach. In the literature, the principles of evaluation were demonstrated primarily on the basis of hit-and-run fatalities, but they also apply to clinical forensic medicine (DODD, 2000). Major abdominal evisceration injuries, defined as herniation of the contents of the peritoneal cavity through the body wall with exposure of the abdominal viscera, appear to be rare in small animals, with only 12 cases reported over a 10-year period in one large teaching hospital (GOWER, 2009). In this paper, it is described the case of a kitten that was found dead in the parking lot area of the Universidade Estadual do Ceará (Uece), eviscerated, with its visceral organs showing through a traumatic opening on the left side of its neck, demonstrating the severity of the lesions caused by a trauma involving a hit and run driver. The objective of this case report was to show the importance of a well structure necropsy report with background image footage and its role as scientific evidence in animal-related crimes. **Methods:** There was performed a necropsy of the animal right after it was found. All procedures were performed by the service of Veterinary Pathology and Legal Medicine Laboratory in Uece, using a modified technique of a veterinary necropsy

protocol from the Armed Forces Institute of Pathology (AfiP) published in 2001. The skin was pulled off mostly near the evisceration site in order to disclose more details of the main lesions found, a common procedure during necropsy with forensics purposes. All the photograph records were taken there as well. **Results:** On the external examination of the body, on the left side of the neck, it was visualized evisceration with segments of intestines, mesentery, trachea, heart and lungs. The jaw was broken and placed in a straight angle which made it complete open. After the skin removal, a rib fracture on the left side of the thorax and a luxation of the scapula articulation where the organs went through was also evident. On the internal examination, there was multiple traumatic herniation of the diaphragm correspondent with the rib fracture, where might be the path the eviscerated organs used to reach its final location after the impact. The other organs left inside (liver, stomach, intestine segments) also presented topographic location abnormalities. In addition to that, the liver presented a great area of laceration as well, which might be the source of the blood found on the thorax cavity (hemothorax). The final topography of the organs would not allow the animal to breathe properly and the liver laceration caused a great loss of blood that was found on the thorax cavity, enough to cause a vascular collapse in this young animal. The cause of death was attributed to hypovolemic shock and multiple failure of the organs, probably induced by the evisceration trauma and general distress. **Discussion:** In consideration to the pattern of the lesions found on the corpse, the external factor that caused all the injuries in the first place was the impact suffered by a great mass, such as a automobile for example, which was very likely to happen because the animal was seen around the parking lot area, that have a lot of automobile flux (GOWER, 2009). Some witnesses were listened after the necropsy procedure and confirmed they saw earlier that day a minivan pass over the body, confirming the initial hypothesis of a hit and run. The animal was very young, by its features, aged less than two months approximately, with very fragile bones (correspondent to its age) and not very dense musculature, which can explain the facility that the organs were eviscerated in such way when put under a lot of pressure like it was to be under the automobile, especially if it was in movement. The next step of the investigation would be gather enough information about

who could be the responsible for this animal-related crime and in addition to the witness statement and the necropsy report, take it to the authorities so the right measures could be arranged for law enforcement. In a case like this, it is crucial to make a well structured report of the necropsy, with all the necessary image footage that background the scientific hypothesis of a death caused by trauma and also assists society and the authorities to visualize even the traces of cruelty in this animal-related crime, since it was committed against an even more fragile and helpless living creature, a kitten. (LOCKWOOD, 2016).

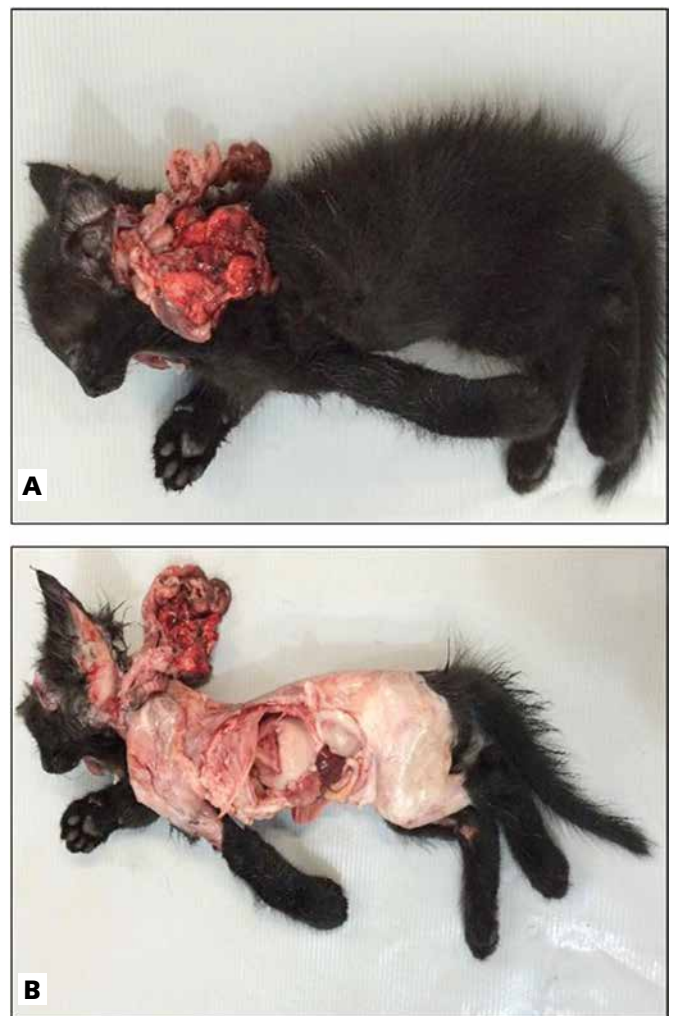


Figure 1 - Left side view of the body showing the traumatic evisceration before (A) and after (B) skin removal, showing also topographic abnormalities of its viscera through abdominal opening.

Source: Laboratório de Patologia e Medicina Veterinária Legal da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará.

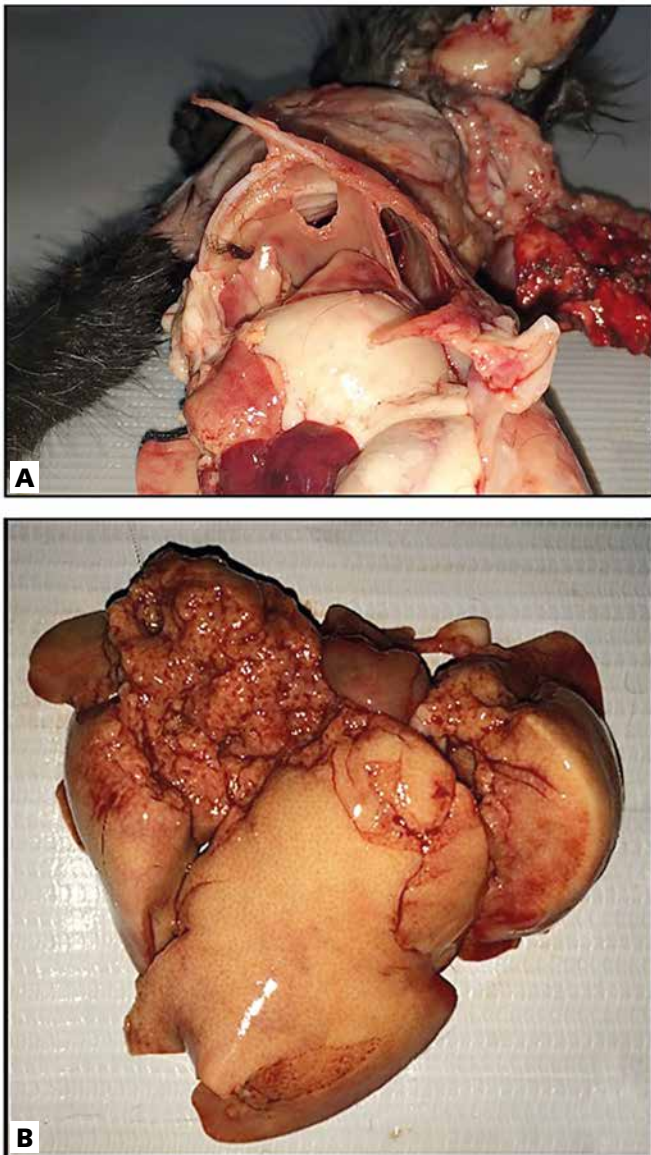


Figure 2 - (A) Rib fracture and traumatic diaphragm herniation from inside view. (B) Liver traumatic laceration in evidence.

Source: Laboratório de Patologia e Medicina Veterinária Legal da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará.

Conclusion: The conclusion, was that hit and runs, like in human medicine are common cause of trauma and deaths in veterinary medicine. It is important to identify the lesions and correlate than to the cause of death in order to help gather data about animal abuse. This kind of data is important because it helps to bring attention to this kind of crimes that are increasing and are still underestimated in nowadays society. For this matter, it is important to have

a well prepared team to perform this kind of procedure and help the justice with a fine and well-structured report that can be used later as a court material.

References

ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY. **Technical Bulletin Med. n° 283**: veterinary necropsy protocol for military working dogs and pathology specimen submission guidelines. Washington, D.C.: Department of the Army, 2001.

BROWNLIE, H. W. B.; MUNRO, R. The veterinary forensic necropsy: a review of procedures and protocols. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 53, n. 5, p. 919-928, 2016.

DODD, M. J. Traffic deaths. In: SIEGEL, J. A.; SAUKKO, P. J.; KNUPFER, G. C. (Eds.). **Encyclopedia of Forensic Sciences**. London: Academic Press, 2000. v. 1, p. 353-358.

GOWER, S. B.; WEISSE, C. W; BROWN, D. C. Major abdominal evisceration injuries in dogs and cats: 12 cases (1998-2008). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Ithaca, v. 234. p. 1566-1572, 2009.

LOCKWOOD, R.; ARKOW, P. Animal abuse and interpersonal violence: the cruelty connection and its implications for veterinary pathology. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 53, n. 5, p. 910-918, 2016.

PATHOLOGIC FINDINGS IN 48 DOGS EXPOSED TO NONACCIDENTAL TRAUMA (PHYSICAL ABUSE) IN THE CENTRAL REGION OF RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL

RAMOS, C. P.¹; FIGHERA, R. A.²; FLORES, M. M.²

¹ Acadêmica do curso de Medicina Veterinária, Bolsista do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). E-mail: crprader@gmail.com.

² Médico-veterinário, professor adjunto do Laboratório de Patologia Veterinária da UFSM.

Introduction: Over the last years, the human society has been demonstrating an increasing interest in the prosecution of crimes against animals (LOCKWOOD, 2006). As a consequence of the growing connection and dependence between humans and animals, the laws regarding animal abuse have become more specific and rigid (FARACO, 2008). Based on this fact, the number of studies concerning post mortem

findings in cases of animal abuse have increased over the years. The aim of this study was to analyze the post mortem findings in all canine necropsy cases confirmed as “nonaccidental trauma” at the Laboratório de Patologia Veterinária from the Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM) from 1964 to 2016. **Method:** The necropsy files of all dogs submitted to necropsy at the LPV-UFSM (1964-2016) were searched, and only those cases where trauma was readily confirmed as “nonaccidental” were included. Information

regarding gender, age and necropsy findings were collected. **Results:** A total of 48 dogs were included. Of the dogs with complete information regarding gender, 27 were males and 15 were females. The dogs with complete information regarding to age were distributed as follows: 28 (1 to 9 years-old), 11 (0 to 11 months-old) and three (10 years or more). All cases were divided into four categories according to the source of physical trauma (Figure 1). All traumatic injuries leading to or contributing with death are demonstrated in Figure 2.

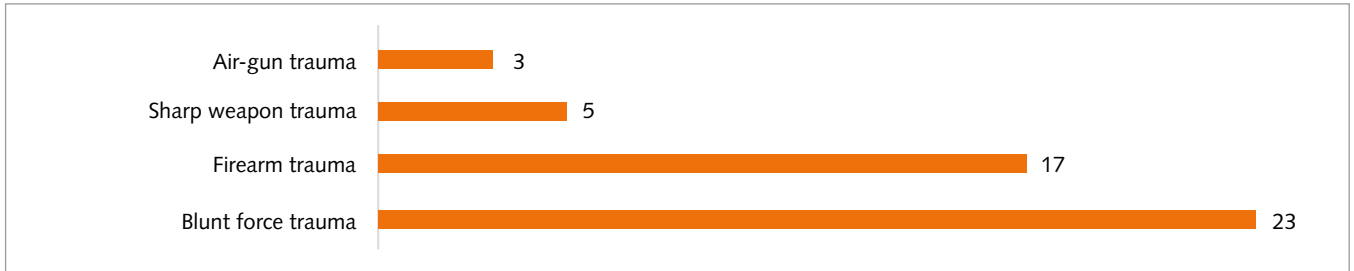


Figure 1 - Source of nonaccidental trauma (physical abuse) in dogs necropsied at LPV-UFSM (1964-2016). Source: Rafael Almeida Figuera.

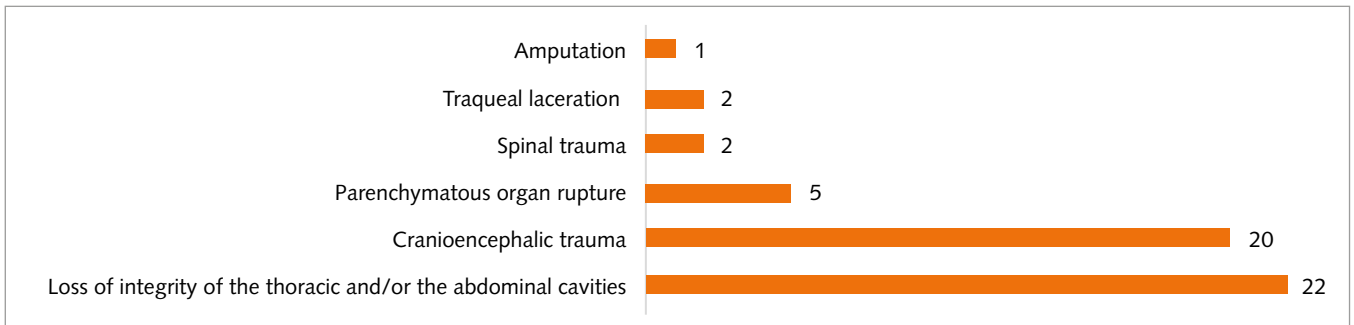


Figure 2 - Injuries in dogs exposed to nonaccidental trauma (physical abuse) and necropsied at LPV-UFSM (1964-2016). Source: Rafael Almeida Figuera.

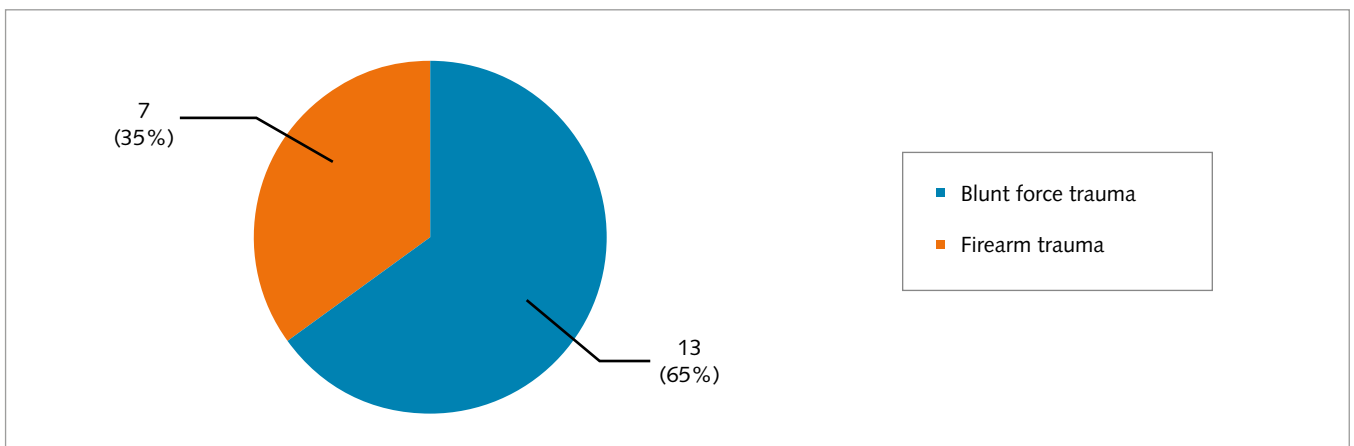


Figure 3 - Source of aggression leading to cranioencephalic trauma in 20 dogs necropsied at LPV-UFSM (1964-2016). Source: Rafael Almeida Figuera.

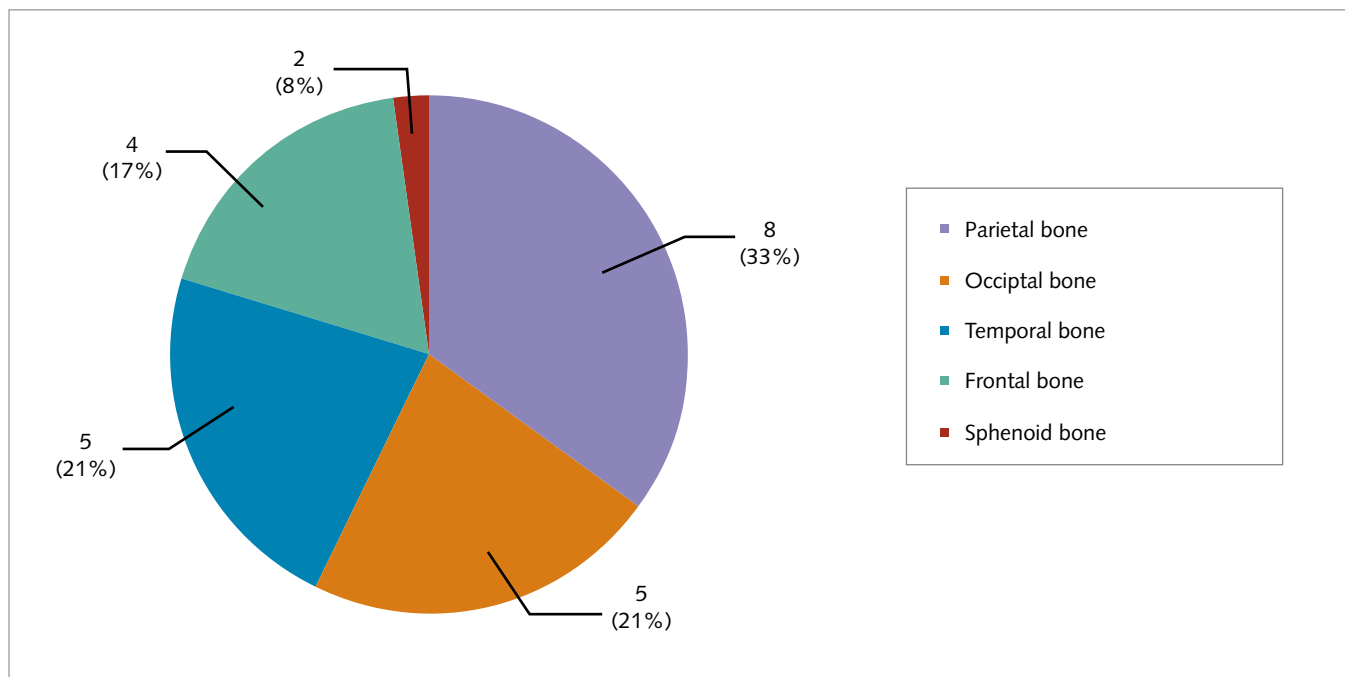


Figure 4 - Sites of 24 fractures observed in 16 dogs submitted to nonaccidental cranioencephalic trauma and necropsied at LPV-UFSM (1964-2016).
Source: Rafael Almeida Figuera.

The thoracic cavity (12) was more frequently affected by perforation or rupture (loss of integrity) when compared to the abdominal cavity (10). Of all cases that involved loss of integrity of any cavity, the type of aggression included: 14 firearm traumas, five sharp weapon traumas and three air-gun traumas. Of the 20 cases of cranioencephalic trauma (Figure 3), 16 involved cranial fractures (Figure 4). Two lesions caused by firearm and blunt force trauma are shown in Figures 5 and 6, respectively.



Figure 5 - Head, dog. Cutaneous wound caused by a firearm.
Source: Rafael Almeida Figuera.



Figure 6 - Brain, dog. Subdural hematoma caused by blunt force trauma.
Source: Rafael Almeida Figuera.

Discussion: Based on this retrospective study it was determined that “blunt force trauma” was the most frequent type of aggression in dogs submitted to necropsy in the Central Region of Rio Grande do Sul, Brazil. The most common causes of death involved rupture of the thoracic and/or abdominal cavities and cranioencephalic trauma. Cases of animal abuse are certainly underrepresented in the necropsy floor for a number of different reasons. For instance, many aggressions remain undiscovered because no witness was present at the

time of the abuse, and therefore, the animal is not taken for post mortem investigation. Another reason is that wounds caused by sharp weapons, firearms or air-guns may not be readily visible at the time of necropsy due to the animal's hair coat (SIQUEIRA *et al.*, 2016). Additionally, it is particularly difficult to determine, in some circumstances, if the trauma was accidental or not. Thus, the clinical history is particularly important in necropsy cases where animal abuse is suspected.

Conclusion: Even with the existence of stronger laws, the practice of animal abuse is not properly punished in Brazil (MERCK, 2008; MUNRO; MUNRO, 2008). The publication of more studies concerning this subject in the country may help propagating the importance and seriousness of animal aggression nowadays, thus, leading to more dramatic changes in the way that humans interact with animals.

References

- FARACO, C. B. Interação humano-animal. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v. 11, p. 31-35, 2008. Suplemento 1.
- LOCKWOOD, R. **Animal cruelty prosecution: opportunities for early response to crime and interpersonal violence**. Alexandria: American Prosecutors Research Institute, 2006.
- MERCK, M. D. **Veterinary forensics: animal cruelty investigations**. 2. ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2008.
- MUNRO, H. M. C; MUNRO, R. **Animal abuse and unlawful killing: forensic veterinary pathology**. Londres: Elsevier Health Sciences, 2008.
- SIQUEIRA, A. *et al.* Forensic veterinary pathology: sharp injuries to animals. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 53, n. 5, p. 979-987, 2016.

POST-TRAUMATIC HYDROCEPHALUS IN A DOG

LOPES, C. E. B.¹; VIANA, D. A.²; MATOS, M. G.¹; RODRIGUES, F. R. N.¹; PIMENTEL, S. P.¹

¹ Estudante de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (Uece). E-mail: 1993carlos.eduardo@gmail.com.

² Professor Doutor de Patologia Veterinária da Faculdade de Veterinária da Uece e diretor-técnico-científico do Laboratório de Anatomia Patológica e Patologia Clínica S/S LTDA (Pathovet) (<http://www.pathovet.com.br>).

Introduction: Hydrocephalus is a condition when an exacerbated amount of cerebral spinal fluid (CSF),

occurring due to an abnormally high production, poor drainage or obstructions in the normal flow, is accumulated in the head, generally occasioning an initial dilation of the lateral ventricles, and culminating in many neurological signs, depending on its cause and severity. Additionally, it could be also associated with head traumas, and in these cases, the forensic necropsy is a necessary tool to elucidate all circumstances involved, establishing a perfect correlation between legal and medical aspects especially when there is doubt of a possible crime. The present paper is a case report of a traumatic injury leading to a hydrocephalus condition.

Methods: Except the physical exam and the X-Ray, performed in a local Veterinarian Emergency establishment, all procedures were conducted in the Laboratório Pathovet[®], in Fortaleza, Ceará, using the modified technique of a veterinary necropsy protocol from the Armed Forces Institute of Pathology (Afip) (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY, 2001) for necroscopic exam guidelines. **Results:** In September, 12th of 2012, a 2-month-old female Yorkshire Terrier, previously acquired in a local Pet Store, was presented to the emergency service demonstrating general pain with constant vocalization, apathy, abdominal sensitivity, pale mucous membranes and dehydration. During clinical examination, a small depression was noted in the head of the puppy and the X-Ray showed cortical discontinuity in frontal and dorsal regions of skull cap leading to a previous diagnosis of hydrocephalus. The guardian insisted that it was a congenital condition brought with the pet at the moment of the deal and not acquired within his house. Despite the efforts, the animal did not respond to treatment with a notorious worsening of symptoms. Thus, with no hope of improvement, the guardian requested its euthanasia and demanded of the owner of the Pet Store a new puppy. Therefore, it was submitted to euthanasia and stored in freezer. Since a dispute was settled around the death of the animal, a forensic necropsy was performed to clarify the actual circumstances of the case. Although the necropsy revealed a good external condition, it was perceived a slight depression in the cephalic region. The main finding in internal exam was Cranial-Cephalic Traumatism with irregular fracture of occipital bone causing a severe subcutaneous and cerebral hemorrhage, as well as an acquired hydrocephalus (Figure 1).

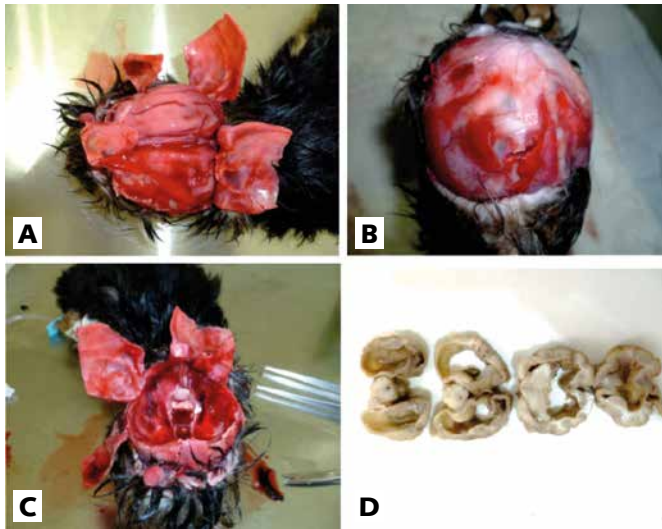


Figure 1 - Skull and brain evaluation. (A) Cranial lesions. (B) Hemorrhage and blood clots on brain surface. (C) Cranial floor with CSF-blood mixed solution. (D) Coronal segments of encephalon showing intense hydrocephalus. Source: Universidade Estadual do Ceará.

Discussion: When speaking about young dogs and cats, it is known that the both species share some particularities by not staying out of trouble. Inevitably, as a gradual and normal discovering process, the young animals are more susceptible to hazardous situations, considering that it is common to this early phase the continuous exploration and jokes, allowing the occurrence of accidental falls, kicks, among other traumas, that culminate sometimes with serious head traumas or even death. Indeed, the age, port and weight seem to perform an important role in the frequency and severity of traumatic cases. In the present case, the owners' dilemma was to consider the possibility of trauma in their possession. We consider that the accident could have occurred in some moment of distraction or negligence, in which the animal could have possibly fallen on a solid surface. To sustain this point of view, it was verified that the trauma was *peri mortem*, occurring in a way directly related to death, by presenting hemorrhage and "green-bone" fractures of the skull cap (Figure 1A), signaling a blunt trauma in an alive bone, generating sharp edges. Equally, the bone breakage of one or more sutures occur in diastatic fractures, by applying a powerful force in the bone surface, mostly common in puppies, because the sutures are still not fully consolidated. Moreover, the physical meningeal damage and blood clots are known to cause CSF obstruction, with a variety of clinical signs depending on the affected structures. Generally, the first

portions to be affected by the blockage of the CSF flow are the lateral ventricles since it is a zone with great volume of fluid secretion. Thus, the Figure 1D expresses the devastating consequences of this enhancement of pressure, committing more than a half of the normal cerebral tissue and being responsible for the loss of a considerable amount of brain matter. Yet, although hydrocephalus seems to be very advanced for such a recent trauma, there were no evidence to support a congenital hydrocephalus because no accurate exams were made since the animal was born, especially because it presented no clinical signs on the moment it was acquired. Moreover, the animal was exposed in the pet store by being apparently health and responsive, together with a normal weight and body condition score for its age, contradictorily to what is explained by Przyborowska *et al.* (2013) for suspicions of congenital hydrocephalus. **Conclusion:** The hydrocephalus condition, as well as the previous symptoms, was attributed to a recent cranial trauma, leading to a fatal chain effect by the occurrence of hemorrhage and CSF flow obstruction.

References

ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY. **Technical Bulletin Med. n° 283:** veterinary necropsy protocol for military working dogs and pathology specimen submission guidelines. Washington, D.C.: Department of the Army, 2001.

PRZYBOROWSKA, P. *et al.* Hydrocephalus in dogs: a review. **Veterinarni Medicina**, Praga, v. 58, n. 2, p. 73-80, 2013.

UNLEASHING THE DOG: CANINE ATTACK OF 17 VICTIMS WITH THE SAME MODUS OPERANDI

LOPES, C. E. B.¹; VIANA, D. A.²; MATOS, M. G.¹; RODRIGUES, F. R. N.¹; PIMENTEL, S. P.¹; PESSOA, A. W. P.³

¹ Estudante de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (Uece). E-mail: 1993carlos.eduardo@gmail.com.

² Professor Doutor de Patologia Veterinária da Faculdade de Veterinária da Uece e diretor-técnico-científico do Laboratório de Anatomia Patológica e Patologia Clínica S/S LTDA (Pathovet) (<http://www.pathovet.com.br>).

³ Professora Doutora de Patologia Veterinária da Faculdade de Veterinária da Uece.

Introduction: Dogs are usually friendly companions, being variably used by men for hunting, protecting,

grazing, guiding or rescuing purposes, besides the world-wide known companion use as a pet. The man's best friend behaves according to stimuli imposed by its tutor, being able to become aggressive and even attack when ordered. Yet, though behavioral deviances can occur, representing a rare portion of accidents with humans or other animals, it may be partially our fault in misunderstanding the given signals or, even misleading the dog to a stressful situation. While some cats and dogs *get along* well, others may not. In some cases, a dog might chase and attack a cat. Signs of aggression from a dog toward a cat represents an aggressive behavior sometimes induced by its tutor. The diagnosis of injuries inflicted by dogs can often be established based on typical tooth marks at the edges of the wounds. Three categories of wounds may be identified: non-fatal dog bite wounds; severe dog bites that directly, or indirectly, lead to the victim's death; and post mortem lacerations of the victim's body. The difference between an *ante-mortem* and *post-mortem* injury is very often possible only during necropsy, when it is investigated the trajectory of the attack in the vital organs and performed the histopathologic exams, which enable the differentiation between a true hemorrhage in an alive tissue or not. Here it is described the attack of 17 stray cats killed under the same circumstances: reiterated type of lesion and a common unknown dog. **Methods:** All procedures were performed by the service of Pathology and Legal Medicine of the Ceará State University, using the modified technique of a veterinary necropsy protocol from the Armed Forces Institute of Pathology – Afip (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY, 2001) for necroscopic exam guidelines, which are mainly based on adaptations for the veterinary reality of the well-known techniques of Ghon and Virchow, routinely used in human medicine. The investigation of the crime scene, followed established recommendations about carcass evaluation and environmental analysis, which mostly consists of photographing the scenario with and without the corpse, together with the surroundings, describing the situation and condensing clues, sometimes being necessary to collect biological or environmental materials, in the way to evidence any hidden information directly or indirectly relevant to the case. **Results:** In total, 17 stray cats of various ages were randomly found in areas of the Campus of Itaperi from Ceará State University (Figure 1) in a period of 17 consecutive weeks. The number of deaths presented an

approximated rhythm of 1 animal/week, all in a same area and day of week (Monday).

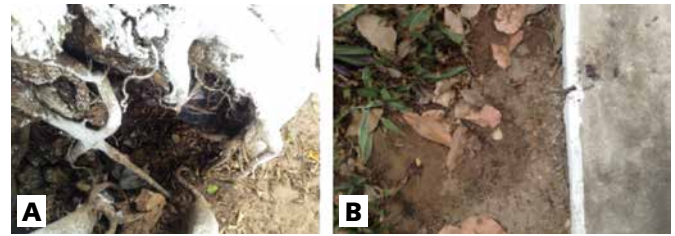


Figure 1 - Field findings. (A) and (B) Crime scenes with blood traces (arrows) and revolved sand (right).

Source: Universidade Estadual do Ceará.

During the crime scene investigation, it was found revolved sand and, sometimes, irregular blood marks beside the dead body (Figure 1). In a previous external exam, it was presumed a mean time of death of eight to 12 hours before. In necropsy, most animals were young, and all presented an equal pattern of external lesions: blunt-stabbing lesions mostly localized in thorax and nape, always in pairs, by showing symmetrical wounds (3,0 x 2,0 centimeters) and characterizing extensive tissue destruction and hemorrhage. It is also highlighted that for the adult cats, additional perforations in thorax and abdomen were additionally common. (Figure 2). The animals exhibited a slight or non-rigor mortis condition.



Figure 2 - Characterization of wounds. (A) Animals found in Campus. (B) Sites of perforation and external aspect. (C) Multiple blunt-stabbing type lesions. (D) Dimension and extension of injury in vital organs.

Source: Universidade Estadual do Ceará.

Discussion: Although crime scene investigation was not enough to estimate if the animals were killed in the location or if they conscientiously dragged themselves until there, the suspicion was that the animals died in those areas, and not randomly discarded, by presenting blood traces all around the place (Figures 1.A and B). Considering the lesions pattern, a possible dog attack could be the deaths cause, and maybe by a same dog, because as seen in Figures 2.C and D, the lacerations and hemorrhages presented a symmetrical curvature compatible to a medium size canine mouth, with the same size in different animals, as pointed out before. Moreover, the cyclicity of cases, led us to believe that these deaths could also be induced by a human guardian, since a possible aggressive errant dog would not choose a unique and same day of the week to hunt. Especially considering that the Campus remained closed during weekends, with the entrance of restricted to security personnel, suggesting their possible involvement because the time of death was about 8 to 12 hours before, that is on the same day early, or on the day before (Sunday). **Conclusion:** Necroscopic examination, along with complementary investigations, was determinant to produce important evidences that someone intentionally led a dog, for several times, to attack the feline population within the Campus, even knowing its massive consequences. Moreover, according to the current legislation in Brazil (Article 936 of the Civil Code – Law 10406/02), the owner is the person in charge to respond for any accidents caused by the animal, except in particular situations. Thus, it would be equally expected for the responsible to be “hunted” and correctly punished.

References

ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY. **Technical Bulletin Med. nº 283:** veterinary necropsy protocol for military working dogs and pathology specimen submission guidelines. Washington, D.C.: Department of the Army, 2001.

BROOKS, J. W. Postmortem changes in animal carcasses and estimation of the postmortem interval. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 53, n. 5, p. 929-940, 2016.

CUEVAS, S. E. C. *et al.* Papel da patologia forense veterinária na investigação de óbito sob circunstâncias desconhecidas de um cão. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 49, 2016.

FRANÇA, G. V. **Medicina legal**. 10. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2015.

PEIXOTO, P. V.; BARROS, C. S. L. A importância da necropsia em medicina veterinária. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3-4, p. 132-134, 1998.

TOUROO, R.; FITCH, A. Identification, collection, and preservation of veterinary forensic evidence: on scene and during the postmortem examination. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 53, n. 5, p. 880-887, 2016.

A DOG DEATH IN A HIT AND RUN ACCIDENT

MATOS, M. G.¹; VIANA, D. A.²; LOPES, C. E. B.¹; PIMENTEL, S. P.¹; RODRIGUES, F. R. N.¹

¹ Undergraduate student of Veterinary Medicine at Universidade Estadual do Ceará (Uece). E-mail: magna570@gmail.com.

² Professor of Animal Pathology, MSc, DSc (Uece) and Technical Scientific Director of Laboratório de Anatomia Patológica e Patologia Clínica S/S LTDA (Pathovet) (<http://www.pathovet.com.br>) – Fortaleza.

Introduction: The practice of veterinary forensic pathology is often precisely to give a voice to a voiceless animal victim of abuse or neglect and tell a well-documented story about an animal that has suffered or died (LOCKWOOD, 2016). In human legal medicine, a lot of hit and run cases are the reason for corpse evaluation. The investigation of hit-and-run road accidents is a special challenge to forensic medical examiners requiring a multiskilled approach (FRANÇA, 2015). In the medical literature, the principles of patient evaluation were demonstrated primarily on the basis of hit-and-run fatalities, but they also apply to clinical forensic medicine (DODD, 2000). In forensic necropsies, a multiskilled approach is also needed. It is fundamental to exam carefully all the external and internal bruises, fractures and other signs of trauma and try to link the shapes and severity of damage caused with a hypothesis about the source of the impact suffered by the body (BROWNLIE, 2016). The present paper is a case report of death caused by trauma in consequence of a hit and run, an animal related crime unfortunately not uncommon in veterinary forensic necropsy investigations. **Case Description:** An young male adult, Yorkshire Terrier dog, was analyzed and verified accord to forensic traumatology after the request of a necropsy exam by the witness who found it on the street. The necropsy

procedure was performed by the service of Pathology and Legal Medicine of Laboratório de Anatomia Patológica e Patologia Clínica LTDA (Pathovet), using a modified necropsy technique from the Armed Forces Institute of Pathology (AfiP). All complementary analysis was performed in the same laboratory. In this case, a Yorkshire terrier was seen running on the street and a few moments later was found dead. On the external body examination, it was visualized parallel linear brown marks measuring around 3.5cm in length on the medial abdomen, macroscopically compatible with the shape of tires burns, which matches the history context. There was also a contusion bruise on the left thoracic limb and a greater bruise on the right thorax area transitioning to right abdomen area that was correspondent with a massive liver laceration, with extensive parenchymal hemorrhage and hepatocytes necrosis and hydropic degeneration found on the histological analysis. In addition to that, there was more than 50ml of red fluid in the thoracic cavity and another 30mL with a great amount of blood clots in the abdominal cavity characterizing a hemothorax and hemoperitoneum. The causes mortis was attributed to hypovolemic shock due to hemothorax and hemoperitoneum.

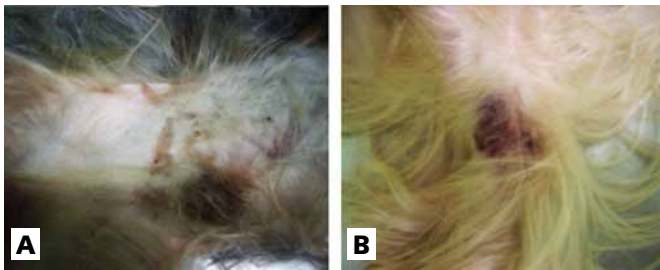


Figure 1 - (A) Tire burns marks on abdominal skin. (B) Contusion bruise on thoracic limb.
Source: Laboratório Pathovet.

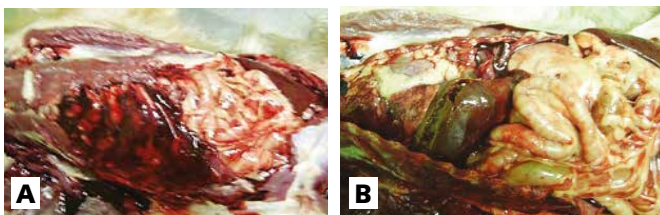


Figure 2 - (A) Bruise on right lateral ribs, corresponding location with liver laceration (B).
Source: Laboratório Pathovet.

Discussion: In consideration to lesions pattern found on the dog's body, the external factor that caused all the injuries in the first place was the impact suffered by a great mass, as an automobile for example, which stands by the main hypothesis of the source of the impact, because the dog was seen earlier before running on a street with a great flux of automobiles moments before it was found dead. Hemoperitoneum is a finding generally caused by penetrating abdominal injuries resulting from bite wounds, gunshot, knife, other missile wounds and impalements (KIRBY, 2012). Occasionally a blunt abdominal trauma such as automobile injuries, like in this case, can also result in a hemoperitoneum. Blunt trauma to the liver, spleen, kidneys, and major vessels can cause patients hemorrhagies (MONGIL, 1995). The liver and spleen are thought to be the most likely sources of severe hemorrhage (FOSSUM, 1997). Because of its large size, friability, and relative immobility, the liver has been reported to be the most commonly injured intra-abdominal organ, and one of the most challenging to manage therapeutically if injured. The liver laceration could easily be the source of the blood that was found in the abdomen cavity (CROWE, 1988). Damage in parenchymal organ such as liver and spleen are very difficult to manage therapeutically, being required a fast surgical intervention in order to have any chance of success in the procedure, which points out that the immediate treatment could have saved this animal life (KIRBY, 2012). Generally, authors agree that the blood loss limit compatible with life in dogs is around 30% of its total volume (AUTHEMENT, 1987). This dog total weight was around 4.0kg, in which the loss of approximately 80mL volume of plasma/blood could easily make it hemodynamically unstable and initiate a hypovolemic shock as seen in this case related to the traumatic hit. The driver didn't stop the car to help the animal or even to take any responsibility for the accident which is directly linked to the animal's death. This makes this supposed accident an animal related crime, and for this the driver can legally respond. There was a lot of vehicles passing through the crime scene at the time, and the other persons did not payed any attention to the car's identification. **Conclusion:** In human legal medicine, hit and run comprises a great amount of trauma cases, as well as in veterinary legal medicine and the law enforcement requires a well-written necropsy report, that can be used in court as a scientific evidence that

should help clarify medical doubts about the biological process suffered by the animal involved, and link the type of the lesions found to the source of the impact.

References

ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY. **Technical Bulletin Med. nº 283**: veterinary necropsy protocol for military working dogs and pathology specimen submission guidelines. Washington, D.C.: Department of the Army, 2001.

AUTHEMENT, J. M.; WOLFSHEIMER, K. J.; CATCHINGS, S. Canine blood component therapy: product preparation, storage and administration. **Journal of American Animal Hospital Association**, Lakewood, v. 23. p. 483-493, 1987.

BROWNLIE, H. W. B.; MUNRO, R. The Veterinary forensic necropsy: a review of procedures and protocols. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 53, n. 5, p. 919-928, 2016.

CROWE, D. T. The steps to arresting abdominal hemorrhage. **Veterinary Medicine**, Duluth, v. 83, p. 676-681, 1988.

DODD, M. J. Traffic deaths. In: SIEGEL, J. A., SAUKKO, P. J., KNUPFER, G. C. (Ed.). **Encyclopedia of forensic sciences**. London: Academic Press, 2000. v. 1, p. 353-358.

FOSSUM, T. W. Surgery of the abdominal cavity. In: _____. **Small animal surgery**. St. Louis: Mosby, 1997. p. 179-199.

FRANÇA, G. V. **Medicina legal**. 10. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2015.

KIRBY, B. M. Peritoneum and retroperitoneum. In: JOHNSTON, S. A.; TOBIAS, K. M. (Ed.). **Veterinary surgery: small animal**. St. Louis: Elsevier Saunders, 2012. v. 1, p. 1418-1421.

LOCKWOOD, R.; ARKOW, P. Animal abuse and interpersonal violence: the cruelty connection and its implications for veterinary pathology. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 53, n. 5, p. 910-918, 2016.

MONGIL, C. M.; DROBATZ, K. J.; HENDRICKS, J. C. Traumatic hemoperitoneum in 28 cases: a retrospective review. **Journal of the American Animal Hospital Association**, Lakewood, v. 31, n. 3, p. 217-222, 1995.

IATROGENIC PNEUMOTHORAX IN DOG AFTER ATTEMPT TO CARDIOPULMONARY RESUSCITATION (CPR)

RODRIGUES, F. R. N.¹; MATOS, M. G.¹; LOPES, C. E. B.¹; PIMENTEL, S. P.¹; VIANA, D. A.²

¹ Undergraduate student of Veterinary Medicine at Universidade Estadual do Ceará (Uece). E-mail: samthvet@hotmail.com.

² Professor of Animal Pathology, MSc, DSc (Uece) and Technical Scientific Director of Laboratório de Anatomia Patológica e Patologia Clínica S/S LTDA (Pathovet) (<http://www.pathovet.com.br>) – Fortaleza.

Introduction: Pneumothorax is the presence of air in the pleural cavity resulting from a discontinuity of the pleural membrane, which allows air to enter the thoracic environment, turning positive the pressure that was negative (ARRUDA, 2011). This condition can surge by spontaneous, traumatic or iatrogenic way. It can be classified as open or closed pneumothorax. The former is produced by a penetrating trauma generating a communication between the thoracic cavity and outer environment turning possible the progressive air penetration. The latter is caused by a blunt trauma and the air accumulation occurs due to extravasation from the injured lung parenchyma, bronchial tree, trachea or esophagus. The consequence of the intrathoracic positive pressure involves: decreased venous return, decreased cardiac output and progressive respiratory insufficiency, possibly resulting in rapidly patient's death. This paper is a report of an iatrogenic pneumothorax case confirmed by a necropsy exam (ANDRADE FILHO; CAMPOS; HADDAD, 2006). **Methods:** A two years old Labrador dog was taken to emergency veterinary care for abdominal dilation and syncope. As an attempt to keep the patient alive, CPR was performed and during this process the animal died due to cardio-respiratory arrest. The necropsy procedures were performed by the Laboratório de Anatomia Patológica e Patologia Clínica (Pathovet), in Fortaleza, Ceará, using the modified technique of a veterinary necropsy protocol from the Armed Forces Institute of Pathology – Afip (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY, 2001). **Results:** During necroscopic examination it was found a caudally dislocated diaphragmatic dome with an insufflating appearance (Figure 1), caused by the CPR procedure, leading to edema, acute pulmonary hemorrhage (Figure 2), pneumothorax and death. Although the cause of death was clear,

other findings contributed to the process since the animal presented intense gastric dilation in consequence of a big amount of food (ration) semi-digested filling completely the organ causing a compression of the liver lobe against the ribs and diaphragm with evident necrosis and hemorrhage (Figure 1), not seen in the diaphragm, which leads to the conclusion that it was a process prior to pneumothorax, but that certainly contributed to the acute respiratory failure responsible for the animal death.

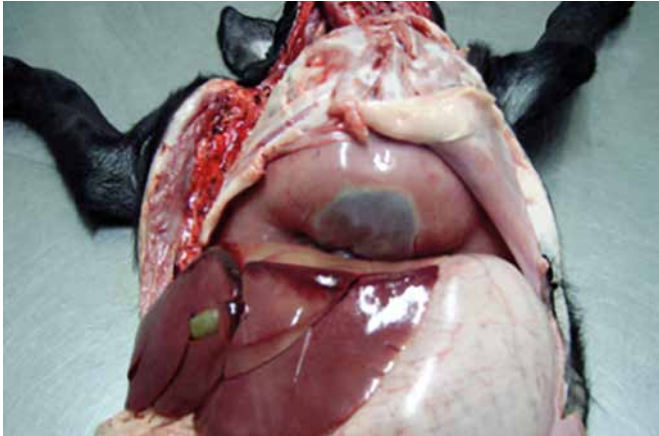


Figure 1 - Abdominal cavity – Caudally dislocated diaphragmatic dome with an insufflating appearance characteristic of pneumothorax, gastric dilation and liver lobe with evident necrosis and hemorrhage.

Source: Laboratório Pathovet.

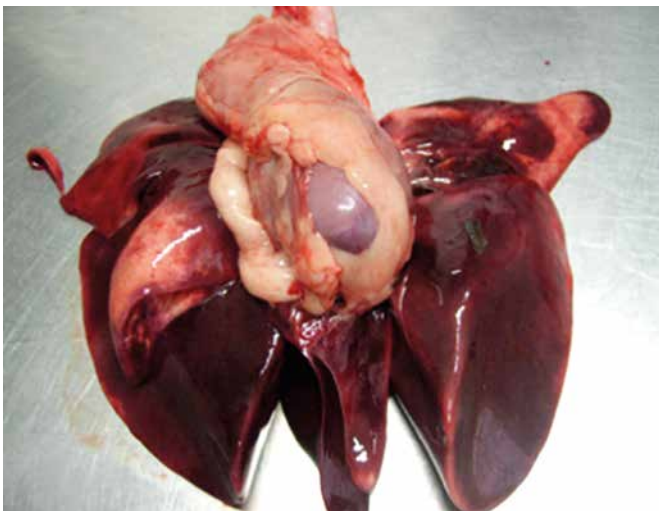


Figure 2 - Lung – Acute hemorrhage.

Source: Laboratório Pathovet.

Discussion: Iatrogenic pneumothorax is due to a diagnostic or therapeutics interventions, the most part invasive ones, from a simple thoracocentesis to trans-thoracic biopsies.

Another cause, but not a common one, is an aggressive CPR procedure, where can occur mainly ribs fractures and injuries of lung parenchyma (VASCONCELLOS, 2009). Air presence in the thoracic cavity, if not treated or in accentuated amount, can cause the patients death, as it was found in this case. **Conclusion:** Iatrogenic pneumothorax can be involved in cases where the veterinarian is an working expert. The determination of the death's cause is very important and the necropsy is a strong tool in forensic veterinary that make possible the description of how and why the animal died, as in the present case, where it was demonstrated an iatrogenic pneumothorax.

References

- ANDRADE FILHO, L. O.; CAMPOS, J. R. M.; HADDAD, R. Pneumotórax. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, Brasília, v. 32, p. S212-216, 2006. Suplemento 4.
- ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY. **Technical Bulletin Med. nº 283:** veterinary necropsy protocol for military working dogs and pathology specimen submission guidelines. Washington, D.C.: Department of the Army, 2001.
- ARRUDA, I. V. **Pneumotórax:** revisão literatura. 2011. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Medicina Veterinária Intensiva de Pequenos Animais) – Universidade Federal Rural do Semi Árido, Mossoró, 2011.
- VASCONCELLOS, R. R. **Pneumotórax traumático em cães.** 2009. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

OCULAR TRAUMA LEADING TO CARDIAC ARREST IN A SHIH TZU DOG

PIMENTEL, S. P.¹; VIANA, D. A.²; MATOS, M. G.¹; LOPES, C. E. B.¹; RODRIGUES, F. R. N.¹

¹ Undergraduate student of Veterinary Medicine, Universidade Estadual do Ceará (Uece). E-mail: samthvet@hotmail.com.

² Professor of Animal Pathology, MSc, DSc (Uece) and Technical Scientific Director of Laboratório de Anatomia Patológica e Patologia Clínica S/S LTDA (Pathovet) (<http://www.pathovet.com.br>) – Fortaleza.

Introduction: Veterinary, legal medicine is a branch of veterinary science responsible for elucidating questions

applied to the law field. Forensic traumatology is a segment that studies the effects of an external energy released on the victim body, translating injuries and immediate or delayed pathological states produced in the body, in order to elucidate the dynamics of the facts (EÇA, 2003). For procedures that have availability properly fresh corpses, or even preserved carcasses by cooling or freezing processes, it is necessary the use of necropsy techniques to establish the *causa mortis*. The aim of the study was to report a case of an acute ocular trauma in a Shih Tzu dog that triggered the early animal's death. **Methods:** A four years-old Shih Tzu male dog was forwarded to Pathovet® Laboratory in Fortaleza for necroscopic examination after a sudden mysterious death. According to the case history, on November 23rd, 2012, the owner took the animal to take a bath and to shear. The animal was healthy, had no lesions before his visit to the pet shop. The procedure started at midday, but during the drying process, the animal presented spasms and involuntary contractions, being then sent to another room to be assisted, but died just after. All necropsy procedures were performed by the Pathovet® Laboratory on November 24, 2012, using a modified technique of a veterinary necropsy protocol from the Armed Forces Institute of Pathology – Afip (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY, 2001). **Results:** In the *post mortem* examination, the main findings included severe left unilateral hyphema, intense hemorrhage of the eyeball and surrounding tissues, marked edema and involvement of the optic nerve segment, showing a traumatic process, together with moderate congestion and brain edema (Figure 1). The analysis of the thoracic cavity revealed moderate congestion and pulmonary edema extending to the upper respiratory airways (acute process), bleeding foci, atelectasis and emphysema, as well as moderate right atrioventricular dilatation, small hemorrhage foci in the epicardium and endocardium.

Discussion: Brachycephalic dogs are susceptible to proptosis of the eyeball, since they have a shallow orbit. Eyeball proptosis occurs by a contusion, an injury resulting from contact with an object directly with the eye globe, or by a concussion (STERTZ, 2014). According to internal medicine literature, blunt or sharp trauma in the eye globe is the most frequent cause of hyphema in small animals (MARTINS, 2015). In consideration to the pattern of the lesions found on the corpse, the external factor that caused all the injuries was a damage

resulting from the contact of a blunt object directly on the eyeball. The energy transmission could have crushed the tissues and ruptured the blood and lymphatic vessels. Neurogenic pulmonary edema is a sudden-onset respiratory disorder characterized by accumulation of fluid in the parenchyma and pulmonary alveoli. It is associated with situations of severe brain damage, such as brain trauma and seizures (RIDENTI, 2012). This condition can suddenly lead to the patient's death. Brain lesions could have been the explanation to the visualized clinical signs, and consequently the cause of a cardiorespiratory arrest. **Conclusion:** In conclusion, it is noteworthy to consider the importance of a meticulous eyes examinations during necropsy, considering that ocular traumas constitute a true and unfortunate reality in small animals, thus showing its importance not be neglected by the veterinarian, because of its possible (systemic) consequences in serious traumas, as the present case. Moreover, the use of the necropsy technique as an auxiliary tool was fundamental for the elucidation of the *causa mortis*, together with providing information about the possible evolution of the unfavorable processes, being even considered a formal report useful and, most of the times, necessary for judicial processes.

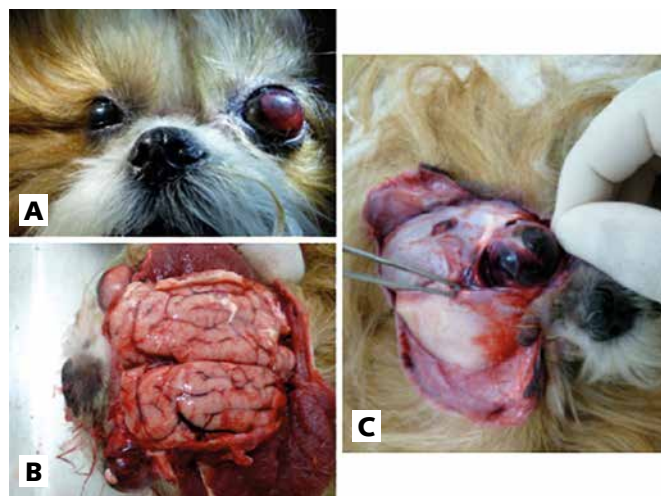


Figure 1 - (A) Unilateral proptosis and hyphema; (B) Hemorrhage of the left eyeball; (C) Congestion and moderate cerebral edema.

Source: Laboratório Pathovet.

References

ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY. **Technical Bulletin Med. n° 283**: veterinary necropsy

protocol for military working dogs and pathology specimen submission guidelines. Washington, D.C.: Department of the Army, 2001.

EÇA, A. J. Tanatologia e traumatologia. In:_____. **Roteiro de medicina legal**. Forense. Rio de Janeiro: Forense, 2003.

MARTINS, T. B.; BARROS, C. S. L. Red eyes in the necropsy floor: twenty cases of hyphema in dogs and cats. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 1, p. 55-61, 2015.

RIDENTI, F. A. S. Edema pulmonar neurogênico: uma revisão atualizada da literatura. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 91-96, 2012.

STERTZ, F. H. *et al.* A. Proptose de globo ocular em canino. In: CONGRESSO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2, 2014, Joaçaba. **Anais...** Joaçaba: Universidade do Oeste de Santa Catarina, 2014.

COMMENTS ON THE AMATEUR CREATION OF PASSERIFORMES AND ITS CONTROL SYSTEM: SISPASS

LORIERI, V. C.¹; ROBIS, F. N. M.²

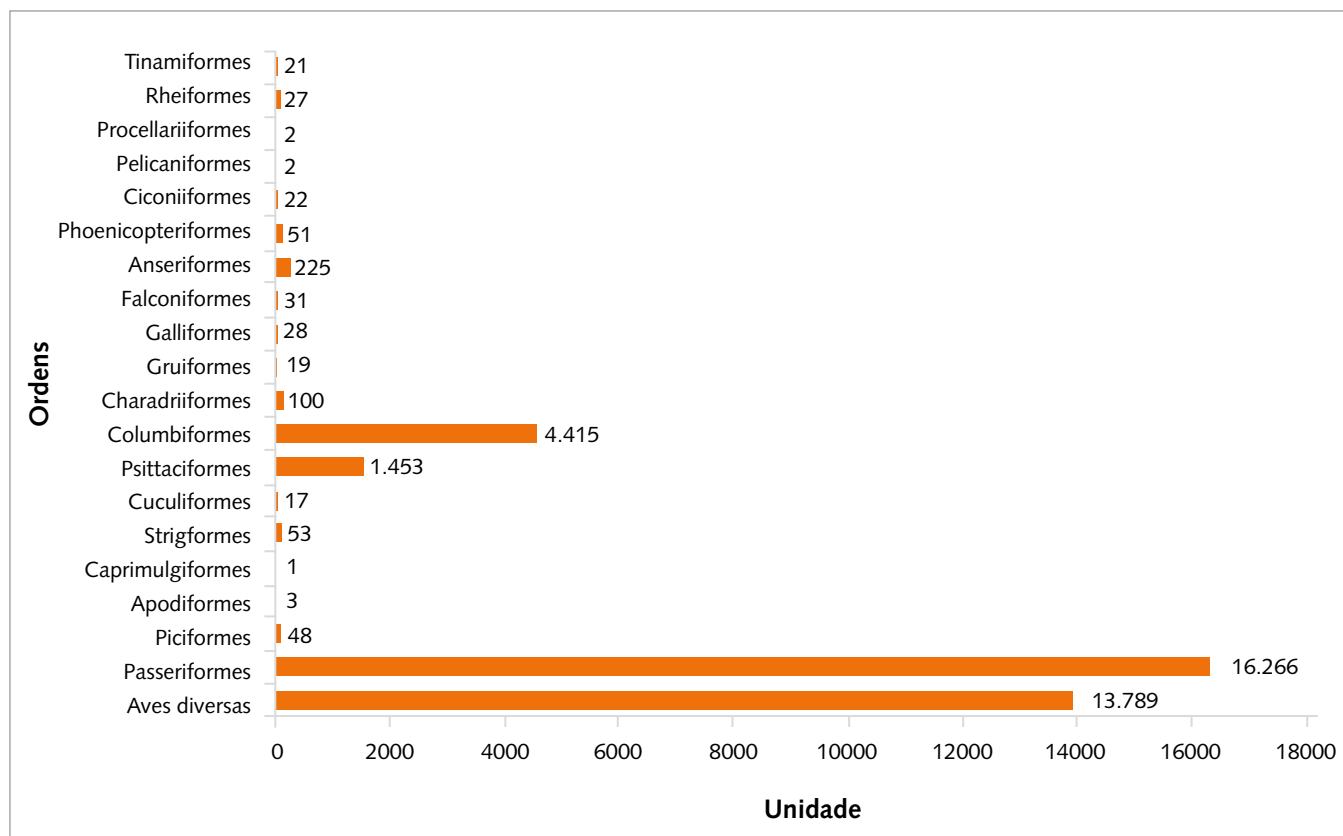
¹ Departamento de Fauna do Estado de São Paulo. E-mail: carolinal@sp.gov.br.

² Polícia Militar do Estado de São Paulo.

Introduction: Since the 1960s, to keep wild animals at home, as a pet, it must be of legal origin (VILLE, 2012). The control method of wild animals origin is based on marking devices, which must be linked to the original document, usually represented by purchase bills. However, there is an activity in Brazil that doesn't comply the general rule. It is the amateur creation of wild passerine birds, stated in 1967's Federal Law nº 5.197 (BRASIL, 1967), and currently regulated by the 2010's Ibama Normative Instruction nº 10 (INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, 2011). For managing this activity, a computerized system had to be created, named the Passeriform Registration System (Sispass). This system consists of a database, created in 2003, which includes all the information from Brazilian amateur breeders (ROSA *et al.*, 2003), who must keep their records up to date,

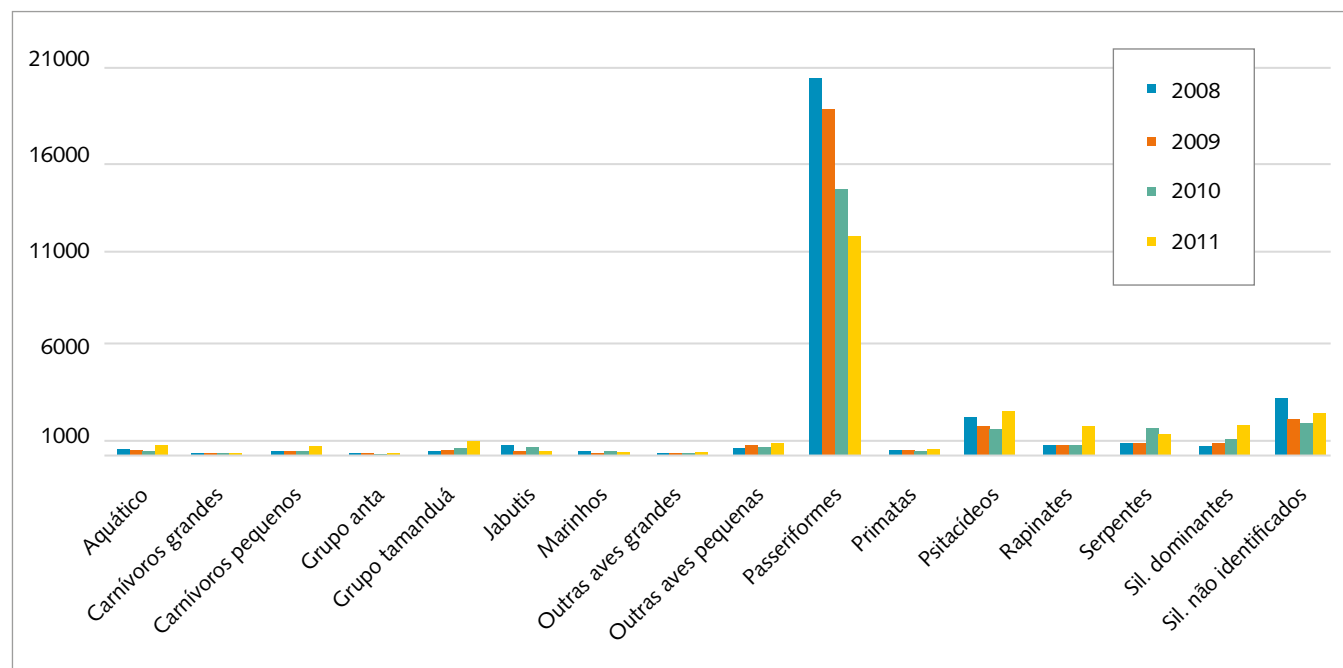
routinely stating the situation of their respective breed. This system operates on-line and was created to manage and supervise passerine breeders. These peculiarities wouldn't be justified by the established general rules for the maintenance of wild animals in captivity; however, it is observed that the purpose of this activity, called an amateur creation of passerines, isn't merely keeping the animals in captivity. It aims to maintain a culture of passerine breeding, making it a legal activity (ROSA *et al.*, 2003). **Materials and Methods:** This article aims to relate the main national norms that give legal support to the amateur creation of passerines, data on the impact on wildlife preservation, especially in the State of São Paulo, comparing data on the trafficking of wild animals at national and regional levels, mainly of those that affect the Passeriform System (Sispass). **Results:** The *ex situ* creation of native birds is the only category of fauna breeding that has a consolidated amateur category, where the citizen can breed a male and a female of passeriform and to tag their offspring. It is estimated that there are approximately 340 thousand registered breeders in Sispass, with a population of more than three million of wild animals. Breeders needn't be technicians or have training in biology, zootechnics or veterinary medicine to maintain the breed's sanity and integrity, as other categories of *ex situ* fauna require. Data compiled by Rede Nacional de Combate ao Tráfico de Animais Silvestres (Renctas) and show the species involved in the wild animals traffic, with information provided by Ibama, between 1999 and 2000 on most trafficked classes of animals, 82% of which are represented by birds with passeriforms as the bird order most illegally marketed in Brazil (Graph 1). Analyzing data provided by the Environmental Military Police of the State of São Paulo, which contains all the seizures of native wild animals carried out in police operations, from 2006 to 2011, it can be said that the illegal bird trade reached alarming numbers. Approximately 33,000 animals were seized just in 2008, and 27,000 of them were native birds. When analyzing the data of apprehensions of passeriforms (Graph 2) in the same year, it is concluded that 27,000 birds were seized, 20,000 were passeriform birds, representing 74% of all birds trafficked in the state of São Paulo. In 2011, despite the absence of arrest data for the full year, there was an accounted data of 80% of all seized animals.

Graph 1 - Representativeness of the orders of birds seized in Brazil in 1999 and 2000.



Source: REDE NACIONAL DE COMBATE AO TRÁFICO DE ANIMAIS SILVESTRES, [2012?].

Graph 2 - Representation of birds of the passeriform order seized in the State of São Paulo from 2006-31/08/2011.



Source: Environmental Military Police of the State of São Paulo.

Comparing the data on wild animals trafficked provided by Renctas (REDE NACIONAL DE COMBATE AO TRÁFICO DE ANIMAIS SILVESTRES, [2012?]), at the national level, focusing on the passeriform order, and analyzing the data provided by the Environmental Military Police of São Paulo, State, Brazil (2011), at the state level, one concludes that the pressure for native birds in captivity still represents a large percentage of the total number wild animals trafficked in São Paulo. It is possible to infer that the high demand for native passeriforms in captivity originates from the amateur breeding activity as it should be a way to reduce the collecting effort on these animals directly from natural habitat, which, according to the data analyzed, indicates the possibility of having the opposite effect, an increase in the capture of wild animals *in situ*, which is finally covered with the legality of breeding, such as fake tags and unidentified purchase bills, among others, in order to regularize the illegally captured animals to incorporated into the breeding. On the other hand, not following the rules defined in the environmental legislation for the amateur creation of passerines, may be classified as an environmental crime. To try to discourage the specific conducts of wildlife traffick were regulated in the environmental crimes, 1998's Federal Law nº 9.605. In the State of São Paulo, administrative fines with a high pecuniary value were also imposed on environmental offenders by 2014's Resolution SMA nº 48 (SÃO PAULO, 2014). However, Silva (2014) reports that the collection of the fines values presented low efficiency, from the punitive and sanctioning point of view, generating no greater annoyance than payment of "basic essential goods". **Discussion:** The amateur breeding of passerines in captivity is a category consolidated throughout the state of São Paulo and, also nationwide. From a legal point of view, having a captive wild animal, especially passerines, is not a violation of national law, since the activity is regulated in 1967's Federal Law nº 5.197 (BRASIL, 1967). The culture of collecting, with the withdrawal of wild animals from nature, is still rooted in society, and it is not common sense by the Brazilian population that the capture of a wild animal directly from nature causes irreversible impacts to the environment. As a consequence, Sispas is often used as a tool to control trafficked wild animals. This study didn't analyze the amateur breeding impact on the expansion of wildlife trade, or whether how this category contributes to species conservation, but the data on the passerine trade on a national and state level was

presented over a period of 11 years (2000 to 2011), and it can be inferred that the trafficking of native birds may have some relation with the amateur creation of passerines. **Conclusion:** The amateur breeding of passerines in Brazil is a regular activity, keeping millions of wild animals in captivity in the breeding. The data presented indicates that the amateur breeding activity of passerines may be encouraging the trafficking of wild animals. From the data presented, 65% of the animals seized in the state of São Paulo by the Environmental Military Police, in the period of four years, are passerines, the most interesting species for breeding. This proportion indicates the need of rethinking current norms for the category, to improve the control of all systems and to re-educate the society in relation to national wildlife heritage. In addition, greater investment on information, support and inspection can contribute to the amateur creation of passerines and reduce the impact on native species *in situ*.

References

- BRASIL. Lei nº 5.197, de 3 de janeiro de 1967. Dispõe sobre a proteção à fauna e dá outras providências. **Diário Oficial [da] União**, Poder Legislativo, Brasília, DF, 5 jan. 1967. Seção 1, p. 177. Disponível em: <<https://goo.gl/VCCp6q>>. Acesso em 20 jul. 2012.
- BRASIL. Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 13 fev. 1998. Seção I, p. 1-5.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Instrução normativa nº 10/2011, de 20 de setembro de 2011:** criação amadora e comercial de passeriformes nativos. Brasília, DF, 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/FP1Env>>. Acesso em: 10 jul. 2015.
- REDE NACIONAL DE COMBATE AO TRÁFICO DE ANIMAIS SILVESTRES. **1º Relatório nacional sobre o tráfico de fauna silvestre.** Brasília, DF: Renctas, [2012?]. Disponível em: <<https://goo.gl/sTMv2T>>. Acesso em: 10 jul. 2015.
- ROSA, T. R. *et al.* **Criação de passeriformes:** manual para utilização do Sispas. Brasília, DF: Ibama, 2003.
- SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado do Meio Ambiente. Resolução SMA nº 48, de 26 de maio de 2014.

Diário Oficial [do] Estado de São Paulo, São Paulo, 28 maio 2014. Seção I, p. 50-52

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. São Paulo: Nova Fronteira, 1997.

SILVA, D. S. **Identificação dos fatores determinantes para a manutenção ilegal de animais silvestres no estado de São Paulo**. 2014. 62 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciências Policiais de Segurança Pública)

– Centro de Altos Estudos de Segurança, Polícia Militar do Estado de São Paulo, 2014.

VILLE, B. M. G. **A criação de animais silvestres em cativeiro e seu comércio no Brasil**: histórico, legislação, política de fauna adotada pelo Estado e seus impactos na conservação e desenvolvimento sustentável. 2012. 94 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Direito) – Faculdade de Direito, Universidade de São Paulo, 2012. Disponível em: <<https://goo.gl/na3KjU>>. Acesso em: 5 out. 2015.

Normas para publicação

1. Formato

As colaborações enviadas à **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia** na forma de artigos, pesquisas, nota prévia, comentários, atualizações bibliográficas, relatos de casos, notícias e informações de interesse para a classe médica-veterinária e de zootécnicos devem ser elaboradas utilizando softwares padrão IBM/PC (textos em Word). Arquivos que excederem a 1 MB deverão ser enviados zipados (WinZip ou WinRAR).

2. Categorias

- **Revisão:** Os Artigos de Revisão têm estrutura livre, de acordo com os objetivos do(s) autor(es) e da Revista, e deve apresentar avaliações críticas sistematizadas da literatura sobre determinado assunto. De preferência, a estrutura deve contemplar resumo, introdução e objetivos, fontes consultadas, critérios adotados, síntese dos dados, conclusões e comentários.
- **Técnico:** Contribuição destinada a divulgar o estado da arte e da ciência em assuntos técnico-científicos que envolvam a Medicina Veterinária e Zootecnia. Trata-se de abordagem que contemple informações com o objetivo da educação continuada, uma vez que contribuições científicas com resultados de pesquisas originais devem ser publicadas em revistas especializadas e com corpo e perfil editorial específico. A estrutura é livre, devendo conter resumo, introdução, objetivos e referências.
- **Relato de caso:** Serão aceitos para publicação os relatos que atenderem os objetivos da educação continuada nas áreas da Medicina Veterinária e da Zootecnia. A estrutura deve contemplar introdução, descrição do caso, discussão, conclusões e referências.
- **Ensaio:** Estudos teóricos de determinados temas apresentados sob enfoque próprio do(s) autor(es).

3. O artigo

- Os artigos devem conter título, resumo e palavras-chave no idioma original do texto do artigo e em inglês, quando este não for o idioma original.
- A pesquisa que fizer referência a estudos feitos com animais deve, obrigatoriamente, incluir o número do processo e/ou autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), exceto nos casos de procedimentos clínicos e zootécnicos.
- Os autores deverão enviar o(s) Termo(s) de Consentimento para artigos que relatem informações colhidas por meio da aplicação de questionários.

4. Fonte

Com a finalidade de tornar mais ágil o processo de diagramação da Revista, solicitamos aos colaboradores que digitem seus trabalhos em caixa alta e baixa (letras maiúsculas e minúsculas), evitando títulos e/ou intertítulos totalmente em letras maiúsculas. O tipo da fonte pode ser Times New Roman ou similar, no tamanho 12.

5. Laudas

Os gráficos, figuras e ilustrações devem fazer parte do corpo do texto, e o tamanho total do trabalho deve ficar entre 6 e 9 laudas (aproximadamente nove páginas em fonte Times New Roman 12, com espaço duplo e margens 2,5 cm). No caso dos Artigos de Revisão, em casos excepcionais, o tamanho total do trabalho pode ser superior a nove páginas.

6. Imagens

Para a garantia da qualidade da impressão, é indispensável o envio separado das fotografias e originais das ilustrações a traço em alta definição (no mínimo 90 dpi) em formato jpeg. Imagens digitalizadas devem ser enviadas mantendo a resolução dos arquivos em, no mínimo, 300 pontos por polegada (300 dpi).

7. Informações do(s) autor(es)

- Os artigos devem conter a especificação completa das instâncias as quais estão afiliados cada um dos autores. Cada instância é identificada por nomes de até três níveis hierárquicos institucionais ou programáticos e pela cidade, estado e país em que está localizada.
- Quando um autor é afiliado a mais de uma instância, cada afiliação deve ser identificada separadamente. Quando dois ou mais autores estão afiliados à mesma instância, a identificação é feita uma única vez.
- Recomenda-se que as unidades hierárquicas sejam apresentadas em ordem decrescente, por exemplo: universidade, faculdade e departamento. Os nomes das instituições e programas devem ser apresentados, preferencialmente, por extenso e na língua original da instituição ou na versão em inglês, quando a escrita não é latina. Não incluir titulações ou minicurrículos.
- O primeiro autor deverá fornecer o seu endereço completo (rua, nº, bairro, CEP, cidade, estado, país, telefone e e-mail), sendo que este último será o canal oficial para correspondência entre autores e leitores.

8. Referências

As referências bibliográficas devem obedecer às normas técnicas da ABNT-NBR-6023 e as citações conforme NBR 10520, sistema autor-data.

9. E-mail para envio

Os trabalhos devem ser encaminhados exclusivamente on-line para: comunicacao@crmvsp.gov.br.

10. Processo de admissão e andamento

O processo inicia-se com a submissão voluntária de pedido de avaliação por parte do(s) autor(es), por meio do envio do arquivo em formato doc. e das imagens referentes por e-mail. O autor receberá uma mensagem de confirmação de recebimento no prazo de dez dias úteis. Caso isso não ocorra, deve-se entrar em contato com a Assessoria de Comunicação do CRMV-SP pelo telefone (11) 5908-4772.

O material enviado seguirá as seguintes etapas de avaliação: pré-avaliação do trabalho pelo editor do periódico, envio para o Corpo Editorial da Revista (no mínimo três) e devolutiva do artigo aos autores com as considerações dos revisores (caso haja). Se aprovado, será enviado ao primeiro autor declaração de aceite, via e-mail.

Os artigos serão publicados conforme ordem cronológica de chegada à Redação. Os autores serão comunicados sobre eventuais sugestões e recomendações oferecidas pelos revisores. O processo de revisão poderá ocorrer em até três meses. Se os autores precisarem apresentar uma nova versão do artigo, conforme as orientações dos revisores, o processo de admissão e revisão inicia-se novamente.

11. Direitos

As matérias enviadas para publicação não serão retribuídas financeiramente aos autores, os quais continuarão de posse dos direitos autorais referentes a elas. Parte ou resumo das pesquisas publicadas nesta Revista, enviadas a outros periódicos, deverão assinalar obrigatoriamente a fonte original.

Quaisquer dúvidas deverão ser imediatamente comunicadas à redação pelo e-mail: comunicacao@crmvsp.gov.br.



Dúvidas

comunicacao@crmvsp.gov.br

Venha conferir as novidades e os lançamentos do setor de nutrição e saúde animal no espaço PET VET.

As principais empresas estão aqui!

Pet VET



Pet

- SOUTH AMERICA -

21 A 23
AGOSTO | São Paulo Expo
SP - Brasil
2018

Faça seu *credenciamento* antecipado!

www.petsa.com.br



CONGRESSO
INTERNACIONAL
Pet
- SOUTH AMERICA -

Aproveite essa oportunidade e participe do Congresso Internacional Pet South America! Assista as melhores palestras nacionais e internacionais do mercado Veterinário em um auditório 360°.

Mais informações: +55 11 3205-5044 / 5042

Aproveite e faça sua inscrição com desconto, utilizando o código:

CIPTSA_PROMO_CRMV

Organização & Promoção:



Parceria:



Interzoo



The North American Veterinary Community



Animal Hospitals



CONSELHO REGIONAL DE
MEDICINA VETERINÁRIA
DO ESTADO DE SÃO PAULO



Associação Brasileira dos
Hospitais Veterinários



COMISSÃO
NACIONAL DE CONTABILIDADE
VETERINÁRIA



ACADEMIA BRASILEIRA DE MEDICINA
VETERINÁRIA

Apoio:



Associação Nacional dos Distribuidores
de Produtos PET



São Paulo



Sindirações



Associação Brasileira de Laboratórios
Analíticos Veterinários



CÃO EQUI
LIBRA DO



WSI



IDEXX



CDK



Dr. TIS

Patrocinadores do Congresso: