

Recolha e envio de amostras biológicas para o diagnóstico de intoxicações em carnívoros domésticos

Sampling and sending biological samples for the diagnosis of intoxication in domestic carnivores

Paula Oliveira, Justina Oliveira e Aura Colaço

Departamento de Patologia e Clínicas Veterinárias, ICETA, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5001-911, Vila Real-Portugal.

Resumo: O diagnóstico clínico das intoxicações nos carnívoros domésticos é em geral difícil e delicado. A principal razão é, sem dúvida, a diversidade de intoxicações possíveis. O êxito do diagnóstico toxicológico dependerá de uma análise exaustiva de informações emergentes de estudos interdisciplinares de carácter epidemiológico, clínico, necrópsico, histopatológico e analítico (laboratório toxicológico). O estudo analítico é de crucial importância para a correcta caracterização do composto tóxico envolvido. O presente artigo, tem como principal objectivo apresentar as medidas e os procedimentos a considerar quando o clínico veterinário pretende resultados analíticos efectuados em amostras biológicas, face à suspeita de uma intoxicação em carnívoros domésticos.

Palavras chave: Recolha de amostras, intoxicação, diagnóstico, carnívoros domésticos, toxicologia, veterinária.

Summary: In the domestic carnivores the clinical diagnosis of intoxications is difficult and deserves caution due to the diversity of the etiological agent. The success of the toxicological diagnosis will depend on the keen analysis of the information from interdisciplinary fields such as epidemiology, clinic, necropsy, histopathology and analysis. The identification of toxic substances is based on analysis made by toxicological laboratories. The correct selection and dispatch of samples for toxicological analysis are crucial to the diagnosis. The main goal of this paper is to describe the measures and procedures that should be taken when the veterinary needs analytical results obtained from biological samples that are suspect of intoxication in carnivores.

Key words: Sampling, intoxication, carnivores, diagnosis, toxicology, veterinary.

Introdução

Pelo facto de vivermos num ambiente cada vez mais contaminado por xenobióticos, os casos clínicos de intoxicação ocorrem com alguma regularidade. O Médico Veterinário no exercício da sua actividade profissional encontra, por vezes, dúvidas no diagnóstico clínico das intoxicações, sendo o recurso a um laboratório especializado em análises toxicológicas absolutamente necessário para as esclarecer e resolver

eventuais situações litigiosas.

Como em qualquer caso clínico, o diagnóstico de uma intoxicação deve basear-se na anamnese, na descrição pormenorizada dos sinais clínicos, na ausência ou presença de sintomas *ante* e *post-mortem*, no tempo que decorreu entre a observação dos primeiros sintomas e a morte do animal, e na resposta do mesmo à terapêutica instituída (Dorman, 1997).

Por análise toxicológica entende-se o conjunto de processos analíticos utilizados para identificar a presença de um produto exógeno, com o objectivo de chegar a um diagnóstico (Repetto, 1997), estabelecer um prognóstico e eventualmente aplicar a terapia específica (Feuillu, 2000). A análise química de amostras colhidas no animal ou no ambiente é fundamental para estabelecer e confirmar o diagnóstico de um quadro clínico de intoxicação. O resultado positivo ou negativo de uma análise química nem sempre é uma evidência conclusiva da ocorrência ou não de intoxicação. De acordo com Galey (2001), um resultado negativo não exclui a ocorrência de uma intoxicação, existem compostos químicos com elevada toxicidade, cujas concentrações nos tecidos é impossível de detectar e quantificar pelos métodos analíticos existentes actualmente. A opinião de Osweiler (1996) é idêntica, referindo o mesmo que os organofosforados podem causar quadros clínicos de intoxicação sem serem identificados pelos procedimentos analíticos comuns. A obtenção de um resultado positivo, para determinados xenobióticos, pode traduzir um falso positivo. Os hidrocarbonetos acumulam-se nos tecidos sem manifestação clínica de intoxicação. A interacção do mercúrio com o selénio e as proteínas forma um complexo desprovido de toxicidade (Osweiler, 1996; Galey, 2001).

Do ponto de vista toxicológico a determinação analítica de substâncias tóxicas pode ser solicitada nos seguintes casos (Galey e Hall, 1990): a) animais com sinais ou sintomas característicos das intoxi-

cações mais frequentes (estricnina, organoclorados, organofosforados, rodenticidas); b) morte súbita de um animal (cão ou gato) clinicamente são durante as horas que precederam a sua morte; c) morte de um ou de vários animais num contexto de atitude mal intencionada (envenenamento).

A pesquisa pode ser feita num líquido orgânico (sangue ou urina), porções de tecidos (fígado, rim, cérebro, pêlos, faneras) ou material suspeito considerado como potencialmente perigoso.

O quadro clínico do animal intoxicado, depende do composto xenobiótico implicado e caracteriza-se por uma extensa diversidade de sintomas, que podem incluir distúrbios do sistema nervoso (excitação, espasmos musculares, convulsões, paralisia, miose, midríase e coma), desordens gastrintestinais (vómitos, diarreia, hipersialia), problemas cardíacos, dificuldades respiratórias, alterações da coagulação, bem como distúrbios nas funções de outros órgãos (Bartíc e Piskač, 1981; Garland, 1997). Os sintomas de uma intoxicação, só por si, são insuficientes para estabelecer um diagnóstico etiológico correcto.

Sempre que é necessário solicitar uma análise toxicológica é fundamental considerar determinados aspectos que irão auxiliar a investigação. Um laboratório de análises toxicológicas não pode pesquisar todos os tóxicos possíveis, só devendo procurar identificar os solicitados. Pelo que não se devem enviar as amostras apenas com a indicação de “amostra para investigação toxicológica”. Todas as amostras devem ser acompanhadas por um relatório minucioso sobre o caso clínico. No caso da pesquisa toxicológica apresentar um resultado negativo, o relatório poderá orientar para a realização de outros procedimentos analíticos executáveis na mesma amostra. Nem todas as amostras se adaptam a análises toxicológicas, é pois necessário não só seleccioná-las como as enviar correctamente em função do tipo de intoxicação suspeita.

Seleção das amostras

Um diagnóstico correcto por análise toxicológica requer amostras bem seleccionadas. De facto, nem todas as amostras estão indicadas para a pesquisa de um xenobiótico, porque alguns métodos são mais exequíveis em determinadas amostras, bem como a quantidade de xenobiótico pode ser maior em determinados tecidos alvo, assim ao seleccionar a amostra é importante considerar o comportamento toxicocinético do composto suspeito (Puyt *et al.*, 1995). As amostras podem ter três origens: o animal vivo, o animal morto e o habitat.

Recolha de amostras no animal vivo

A estabilização dos sinais vitais é de extrema importância perante um caso clínico de intoxicação. Con-

tudo, Roder (2001) refere que a recolha de amostras deve realizar-se antes da administração de qualquer terapêutica sintomática ou de um antídoto, pois estes podem interferir com o método analítico utilizado. Podem ser recolhidas quatro tipos de amostras, são elas por ordem decrescente de interesse: conteúdo gástrico, conteúdo vesical, sangue e faneras.

Conteúdo gástrico

A principal porta de entrada de um xenobiótico no animal é por ingestão (Drellich e Aldrich, 2001; Miranda *et al.*, 2001), pelo que o conteúdo gástrico é de grande interesse nas exposições únicas e reiteradas sempre que a via de exposição é a oral (Pouliquen, 1999), pois nele o tóxico pode atingir concentrações muito elevadas (Puyt *et al.*, 1995).

Desde que a ingestão do composto não tenha ocorrido há mais de 4 horas, e o animal não tenha ingerido um antidepressivo tricíclico (Roder, 2001), pode recorrer-se à lavagem gástrica (Drellich e Aldrich, 2001; Peterson, 2001) e à indução farmacológica do vômito para recolher amostras do conteúdo gástrico. A apomorfina, xarope de ipecacuanha a 7%, cloreto de sódio e peróxido de hidrogénio a 3% podem ser utilizados no cão. No gato pode administrar-se o cloreto de sódio, o peróxido de hidrogénio a 3% e a xilazina (Puyt *et al.*, 1995; Osweiler, 1996; Poppenga, 1999; Peterson, 2001). Não deve induzir-se o vômito na presença de convulsões, depressão severa ou coma, perda do reflexo de deglutição, hipóxia ou caso tenha sido ingerido óleo, gasolina, destilados do petróleo, substâncias cáusticas ou corrosivas (Grauer e Osweiler, 1992; Barragry, 1994; Peterson, 2001; Poppenga, 1999; Drellich e Aldrich, 2001).

Sempre que possível, os proprietários devem estar instruídos para guardar o material vomitado, caso o animal vomite em casa (Poppenga e Braselton, 1990).

Conteúdo vesical

A urina constitui uma amostra de interesse, porque permite identificar xenobióticos excretados em natureza por via urinária (estricnina, crimidina e clorato) (Pouliquen, 1999), ou os seus metabolitos (Gutiérrez e Salsamendi, 2001). Por outro lado, os processos de concentração do filtrado glomerular e secreção tubular permitem que o tóxico atinja, em determinadas circunstâncias, concentrações muito elevadas, da ordem da mg/ml, ou seja concentrações 100 a 1000 vezes superiores às sanguíneas (Puyt *et al.*, 1995; Pouliquen, 1999). No entanto, na prática clínica a sua importância é subestimada (Poppenga e Braselton, 1990). Não é necessário adicionar conservantes à urina (Repetto, 1997).

Sangue

Os agentes xenobióticos são distribuídos pelo sangue a todos os tecidos (Repetto, 1997; Osweiler, 1999), pelo que a sua identificação nesta amostra indica com fiabilidade a exposição a um determinado composto.

Os xenobióticos orgânicos podem ser transportados livres no plasma, ou ligados a proteínas ou lipoproteínas (Puyt *et al.*, 1995), excepto os metais pesados (chumbo, zinco, arsénio e ferro) que são transportados pelos glóbulos vermelhos (Repetto, 1997).

Às amostras de sangue recolhidas não devem adicionar-se anticoagulantes, estes podem interferir com a técnica laboratorial utilizada. No entanto, para identificar o chumbo torna-se necessário acrescentar à amostra heparina ou ácido etilendiaminotetracético (EDTA), dependendo do método analítico utilizado (Casteel, 2001).

Apesar dos procedimentos serem morosos e o tempo necessário para preparar as amostras rondar as 48 horas, a cromatografia gasosa permite identificar com alguma rapidez compostos xenobióticos no sangue.

Determinados compostos tóxicos caracterizam-se por induzir alterações funcionais em determinados órgãos ou vias metabólicas. A realização de análises clínicas laboratoriais pode confirmar e quantificar o dano tóxico provocado num órgão (Osweiler, 1996), por exemplo o quadro clínico de intoxicação pelo chumbo caracteriza-se por um aumento sérico do colesterol e dos triglicérides (Tussel *et al.*, 2001). Podem incluir-se, de acordo com Osweiler (1996), as seguintes análises laboratoriais: perfil hepático e renal, provas de coagulação (tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial activada), análise de urina, ionograma e gasometria.

O soro pode ser utilizado para identificar compostos xenobióticos ou quantificar a actividade enzimática como é o caso das colinesterases (Lorgue *et al.*, 1996). Nestes casos é necessário separá-lo do coágulo para evitar a hemólise e a contaminação da amostra (Puyt *et al.*, 1995; Osweiler, 1999; Pouliquen, 1999).

Faneras

Apesar de o pêlo e das unhas serem facilmente acessíveis o seu interesse é relativo em toxicologia analítica veterinária (Pouliquen, 1999). Nos casos de intoxicação por organofosforados ou metais pesados (chumbo e arsénio) assumem certa importância, contudo são pouco utilizadas quando em comparação com as investigações toxicológicas feitas no Homem (Pappas *et al.*, 1999). As faneras são inúteis nas intoxicações agudas, pois devido à sua fraca vascularização não permitem uma acumulação rápida de tóxicos. Nos casos de intoxicação crónica e estudos de poluição o seu interesse torna-se mais relevante, contudo é difícil estabelecer a diferença entre uma situação de contaminação externa superficial e uma acumulação no interior dos constituintes das faneras (Puyt *et al.*, 1995). A análise às faneras é utilizada para confirmar suspeitas de fornecimento excessivo de oligoelementos ao animal (Pouliquen, 1999). Em toxicologia forense a análise ao pêlo tem muitas aplicações, permite a detecção de substâncias num período que vai desde os três dias até aos vários meses ou anos, e porque esta amostra pode

ser armazenada à temperatura ambiente (Wenning, 2000).

Recolha de amostras no animal morto

A recolha de amostras a partir do animal morto destinadas a exames toxicológicos, deve ser feita o mais rapidamente possível após a morte do mesmo e durante a necrópsia. Esta deve ser completa, com uma descrição detalhada de todos os órgãos e tecidos independentemente de parecerem ou não afectados (Bartíc e Piskač, 1981). No entanto, em toxicologia forense é possível proceder à análise de cadáveres cuja morte tenha ocorrido há mais de 8 dias. A presença de determinadas lesões, para além das patognomónicas como a pancreatite hemorrágica na intoxicação por estricnina, podem com efeito orientar para um diagnóstico toxicológico. Por esta razão a colheita de amostras é geralmente realizada no momento da necrópsia (Puyt *et al.*, 1995).

A necrópsia do animal que tenha morrido intoxicado contribui substancialmente para a precisão do diagnóstico (Bartíc e Piskač, 1981). O exame *post-mortem* pode auxiliar na eliminação de causas não toxicológicas como responsáveis pela morte do animal, ou ajudar a reduzir a lista de tóxicos possíveis (Poppenga e Braselton, 1990).

Durante a necrópsia deve observar-se o exterior do animal, nomeadamente a cor do pêlo e das membranas mucosas, após o contacto com ácidos surge uma coloração amarelada ou acastanhada da pele e das mucosas (Bartíc e Piskač, 1981; Puyt *et al.*, 1995; Lorgue *et al.*, 1996). Analisam-se as aberturas naturais, tecido adiposo subcutâneo, músculos, ossos, cavidades corporais e órgãos internos (Bartíc e Piskač, 1981). A congestão generalizada do animal, acompanhada de hemorragias pancreáticas e de antecedentes convulsivos, podem sugerir uma intoxicação por estricnina. A presença de sangue nas cavidades torácica, abdominal e ou articular podem acompanhar a intoxicação por rodenticidas anticoagulantes. Um dos aspectos mais difíceis de avaliar durante a necrópsia é o odor, contudo pode orientar para uma intoxicação particular. O odor no momento da abertura do animal a amêndoas amargas é comum na intoxicação por cianetos (Puyt *et al.*, 1995).

Durante o exame *post-mortem*, as amostras podem ser colhidas para exame histopatológico e toxicológico, mas não para ambos. De cada tecido devem ser colhidas duas amostras, uma deve ser preservada em formol a 10%, para análise histopatológica (Jolly, 1969) e a outra congelada ou refrigerada para uma eventual análise toxicológica (Poppenga e Braselton, 1990). A análise histopatológica serve para confirmar a presença de lesões causadas por xenobióticos. A lipidose hepática e a proliferação dos ductos biliares observam-se nos casos de intoxicação por aflotoxinas no cão (Hooser e Talcott, 2001), a identificação de cristais de oxalato de cálcio no rim é comum na intoxicação pelo

etilenoglicol (Osweiler, 1996). A realização de exames histopatológicos a tecidos pode sugerir um diagnóstico alternativo ou indicar a necessidade de executar uma análise toxicológica específica (Poppenga, 1999).

No quadro I e II, respectivamente, estão referidas as quantidades das amostras consideradas de interesse para a pesquisa de compostos tóxicos e a natureza das amostras a seleccionar perante a suspeita de uma determinada intoxicação.

Conteúdo gástrico e intestinal

O conteúdo gástrico é de extrema importância nas intoxicações cuja porta de entrada do agente xenobiótico é a via oral. O estômago, após a morte do animal,

pode apresentar uma quantidade de tóxico suficiente para permitir caracterizar uma exposição única ou uma exposição reiterada. Para evitar a perda do conteúdo gástrico o mais fácil é recolher todo o estômago e fazer duas ligaduras, uma em cada extremidade (Puyt *et al.*, 1995). A observação do conteúdo gástrico poderá ainda servir para avaliar colorações anormais, identificar macroscopicamente a presença de sementes, fragmentos de plantas ou outros elementos estranhos (Osweiler, 1996). A absorção do xenobiótico a partir do trato gastrintestinal ocorre fundamentalmente por difusão passiva. A absorção dos tóxicos pode ocorrer ao longo de todo o trato gastrintestinal, mesmo na boca e no recto (Klaassen e Rozman, 1991). No entanto, torna-se

Quadro I - Amostras de interesse nas intoxicações dos carnívoros domésticos (Adaptado de Lorgue *et al.*, 1985, Poppenga e Braselton, 1990; Galey, 1995; Puyt *et al.*, 1995; Osweiler, 1996; Turk e Casteel, 1997; Roder, 2001).

Amostra	Quantidade	Comentários
<i>Ante mortem</i>		
Conteúdo gástrico	Totalidade	Permite detectar xenobióticos de todos os tipos em especial os que não podem ser medidos nos tecidos (organofosforados).
Urina	20 a 50 ml	Pode encontrar-se na urina concentrações do tóxico 1000 vezes superiores às do sangue, serve para confirmar a exposição oral a um xenobiótico.
Sangue total ou soro	10 a 20 ml	Permite avaliar os electrólitos, ureia, azoto; função hepática e renal; exposição a metais e substâncias activas.
Fezes	50 a 100g	Utilizadas para a pesquisa de Ivermectinas; exposições orais recentes ou para identificar substâncias activas ou xenobióticos excretados no fluido biliar.
Líquido cefalorraquidiano	1ml	Avaliação dos níveis de sódio.
Pele	Amostra representativa da lesão	A intoxicação pelo tálio induz hiperqueratose e paraqueratose, a intoxicação por organobrominas induz alopecia e hiperqueratose.
Faneras (pêlo e unhas)	1 a 10g	Úteis em intoxicações crónicas (metais pesados).
<i>Post mortem</i>		
Conteúdo gástrico e intestinal	50 a 100g	Em cachorros o estômago completo, ligado nas duas extremidades. Confirma a exposição por via oral a um composto tóxico.
Fígado	50 a 100g	De interesse nas exposições únicas a tóxicos lipossolúveis, nas exposições únicas ou reiteradas a metais (chumbo, arsénico) e raticidas anticoagulantes. A bñlis pode ser utilizada para detectar compostos tóxicos concentrados na vesícula biliar.
Rim	50 a 100g	De interesse nas exposições únicas ou reiteradas a metais (chumbo, arsénico e mercúrio), antibióticos, alcalóides, herbicidas, oxalatos, fenóis e etilenoglicol.
Cérebro	Um hemisfério	Em intoxicações por insecticidas organoclorados, organofosforados, carbamato para identificar compostos neurotóxicos (piretrinas, sódio e mercúrio).
Tecido adiposo	50 a 100g	Utilizado para detectar a acumulação de tóxicos lipossolúveis como pesticidas e dioxinas.
Oso longo	1	Pode ser utilizado para avaliar a exposição reiterada a metais pesados.
Músculo	50 a 100g	Utilizado para a pesquisa de cianeto ou de metais pesados.
Pulmão	100g	Utilizado para pesquisar paraquat.
Humor vítro	Olho inteiro	Pesquisa de álcool.
Habitat		
Alimentos	100 a 250 g	Amostras de interesse perante a suspeita de intoxicação intencional ou utilização de agentes fitossanitários.
Água	300g /1 L	
Plantas		Existem plantas com propriedades tóxicas.

menos significativa quando comparada com a absorção que ocorre ao nível do estômago e do intestino, onde a sua importância é condicionada pelos valores de pH, este determina o grau de dissociação molecular apresentado pelos compostos iónicos débeis. Assim, a acidez estomacal favorece a absorção dos compostos não ionizados de ácidos débeis, enquanto que o pH básico do intestino delgado favorece a difusão e absorção das bases débeis (Gutiérrez e Salsamendi, 2001).

Fígado

O fígado é o segundo órgão de interesse no cadáver, é um órgão que apresenta uma elevada capacidade de se ligar aos xenobióticos (Puyt *et al.*, 1995). Possui uma importante vascularização, e é passagem obrigatória dos xenobióticos absorvidos no intestino para a circulação sistémica (Gutiérrez e Salsamendi, 2001). Por outro lado, a sua composição rica em lípidos e em metalotioneínas explica a sua elevada afinidade para tóxicos lipossolúveis (insecticidas, anticoagulantes, estricnina) e metais pesados como o chumbo e o ferro. As 50 a 100 g necessárias para uma análise toxicológica podem ser colhidas a partir de qualquer lóbulo hepático (Puyt *et al.*, 1995).

Rim

O interesse toxicológico do rim é idêntico ao do fígado (Poppenga e Braselton, 1990; Pouliquen, 1999). Com efeito, é um órgão de excreção com uma importante vascularização, e pela sua riqueza em metalotioneínas, é de particular relevância nos casos de intoxicação por metais pesados. Numa suspeita de intoxicação por etilenoglicol, o rim deve ser fixado em formol a 10%, porque por exame histopatológico os cristais de oxalato de cálcio são facilmente identificados (Poppenga e Braselton, 1990; Puyt *et al.*, 1995).

Conteúdo vesical

O conteúdo vesical tem o mesmo valor de diagnóstico, e as mesmas limitações, quer o animal esteja vivo ou morto (Pouliquen, 1999). Contudo, devido ao relaxamento dos esfíncteres nos animais mortos, no momento da necrópsia, a bexiga apresenta-se vazia (Lorgue *et al.*, 1996). Nas intoxicações por estricnina, cloralosa e crimidina, a urina tem um importante valor analítico, porque estes compostos são excretados em natureza (Puyt *et al.*, 1995).

Sangue

O doseamento de xenobióticos no sangue é de grande importância, contudo após a morte é difícil recolher esta amostra. O coágulo intracardíaco (Lorgue *et al.*, 1996) ou órgãos altamente vascularizados como o baço (Pappas *et al.*, 1999), colhidos logo após a morte do animal, são uma alternativa para alguns estudos indirectos, realizáveis em intoxicações provocadas por raticidas anticoagulantes (Puyt *et al.*, 1995) e dióxido de carbono, respectivamente (Pappas *et al.*, 1999).

Tecido adiposo

O tecido adiposo é uma amostra pouco utilizada no diagnóstico analítico das intoxicações (Puyt *et al.*, 1995). Muitos compostos orgânicos presentes no ambiente são lipofílicos, esta característica permite uma rápida passagem pelas membranas celulares e penetração no tecido adiposo (Klaassen e Rozman, 1991). As amostras de tecido adiposo mais indicadas são as mais vascularizadas, nomeadamente a gordura mesentérica e perirenal (Puyt *et al.*, 1995; Lorgue *et al.*, 1996). Contudo, podem surgir dificuldades na interpretação dos resultados pois a identificação de concentrações muito reduzidas de um tóxico podem traduzir uma contaminação antiga, sem relação com o tóxico em causa, é o caso do lindano (Pouliquen *et al.*, 1999).

Encéfalo

O encéfalo é um tecido muito vascularizado, os compostos lipossolúveis (fosforados, clorados e narcóticos) (Bartíc e Piskač, 1981) atavessem a barreira hematoencefálica facilmente e atingem nele concentrações elevadas (Puyt *et al.*, 1995). A colheita de uma amostra deste local é relativamente difícil, implicando a abertura da abobada craniana (Pouliquen *et al.*, 1999). O encéfalo deve ser cortado sagitalmente e o núcleo caudado pode ser recolhido para determinar a actividade das colinesterases (Lorgue *et al.*, 1996). Na intoxicação pelo monóxido de carbono, substância volátil, pode recolher-se encéfalo para a sua identificação laboratorial (Jackson, 1986; Pappas *et al.*, 1999) pela técnica de espectrofotometria de absorção molecular. O encéfalo é uma amostra pouco utilizada em toxicologia analítica, porque exige técnicas muito apuradas de purificação, sendo difícil obter extractos suficientemente limpos de impurezas para poderem ser analisados em equipamento sensível.

Ossos

Poucas vezes se recolhe uma amostra de osso, no entanto pode ser utilizada para avaliar a exposição crónica a metais pesados (Pouliquen *et al.*, 1999). Compostos como o flúor, chumbo e estrôncio podem ser incorporados e armazenados na matriz óssea. A deposição e armazenamento de xenobióticos no osso pode ser ou não prejudicial. O chumbo não é tóxico para o osso, mas os efeitos da deposição do flúor (fluorose do esqueleto) e do estrôncio radioactivo (osteosarcoma e outras neoplasias) estão descritos. Os compostos depositados no osso não estão irreversivelmente sequestrados, podendo ser removidos por actividade osteoclastica (Klaassen e Rozman, 1991).

Músculo

O tecido muscular, cardíaco ou esquelético, é pouco utilizado para a pesquisa de compostos tóxicos. No entanto, pode ser uma amostra de eleição para a pesquisa de cianetos e na intoxicação por compostos ionóforos (Roder, 2001).

Olho

O globo ocular pode utilizar-se para determinar a concentração de iões como o sódio, cálcio, potássio e magnésio, bem como o amónio, nitratos e ureia. A concentração ocular de potássio e ureia são utilizadas para estimar há quanto tempo ocorreu a morte. O nervo óptico pode ser utilizado para pesquisar o arsénio na forma orgânica (Roder, 2001). O humor vítreo está protegido da putrefacção (Pappas *et al.*, 1999).

Colheita de amostras no habitat

No local da ocorrência de uma intoxicação as amostras mais importantes a considerar são fundamentalmente os alimentos (carne à qual tenha sido incorporada intencionalmente um tóxico), água e plantas

(particularmente após utilização de compostos fitosanitários) (Puyt *et al.*, 1995; Pouliquen *et al.*, 1999). Estas amostras podem servir para reforçar determinados argumentos perante situações litigiosas, particularmente se for encontrado em comum um tóxico no alimento e na amostra colhida do animal.

Conservação das amostras

Os órgãos colhidos durante a necrópsia, destinados a análises químicas, devem ser cuidadosamente protegidos contra a contaminação por contacto com desinfetantes ou outros químicos e não devem ser lavados com água (Bartíc e Piskač, 1981).

As amostras a enviar para exame toxicológico não devem conter qualquer preservante ou conservante,

Quadro II - Natureza das amostras e precauções particulares a considerar numa suspeita de intoxicação em carnívoros domésticos (intoxicações mais frequentes) (adaptado de Poppenga e Braselton, 1990; Puyt *et al.*, 1995; Osweiler, 1999; Roder, 2001).

Tóxico	Amostra	Quantidade	Método analítico	Condições
Arsénio	Conteúdo gástrico e intestinal	50 a 100g	Espectroscopia	R ou C
	Fígado	50 a 100g		R ou C
	Rim e urina	50 a 100g		R ou C
Insecticidas, organoclorados, organofosforados e carbamatos	Sangue	1 a 2 ml	Cromatografia gasosa ou cromatografia líquida	R ou C
	Conteúdo gástrico e intestinal	50 a 100g		R ou C
	Fígado e cérebro	50 a 100g		R ou C
	Urina	50 ml		R ou C
Cianeto	Músculo	50 a 100g	Cromatografia gasosa ou destilação seguida de titulação	R ou C
	Conteúdo estomacal	50 a 100g		R ou C
	Fígado	50 a 100g		R ou C
Etilenoglicol	Cérebro	Inteiro	Cromatografia gasosa	R ou C
	Rim	Inteiro (cachorro)		R ou C
	Sangue	50 a 100g		R ou C
	Soro	5 a 10 ml		R ou C
Estricnina ou metaldeídos	Conteúdo estomacal	50 a 100g	Cromatografia de camada fina ou HPLC	R ou C
	Urina	50 ml		R ou C
	Cérebro	Metade		R ou C
	Fígado	100g		R ou C
	Rim	100g		R ou C
Ivermectinas	Fígado	50 a 100g	HPLC	R ou C
	Fezes	50 a 100g		R ou C
	Conteúdo estomacal	50 a 100g		R ou C
Anticoagulantes	Sangue	5 ml	Cromatografia de camada fina	R
	Fígado	100g		R ou C
	Rim	1		R ou C
Aflotoxina	Alimento	450g	Cromatografia de camada fina ou HPLC	R
	Fígado	50 a 100g		R ou C
Amitraz	Pêlo	10g	Cromatografia gasosa ou cromatografia líquida	R ou C
	Cérebro	1 hemisfério		R ou C
	Pulmão	50 a 100g		R ou C
Monóxido de carbono	Sangue	5 ml	Espectrofotometria	Refrigerado (encher o tubo na totalidade)

Legenda: R (Refrigerado a 4 °C) ou C (Congelado -18 a -20 °C) ; HPLC - Cromatografia líquida de alta resolução.

excepto caso existam indicações em contrário determinadas em função do método analítico a utilizar (Osweiler, 1999), porque a detecção de qualquer substância adicionada torna-se relevante do ponto de vista toxicológico (Jolly, 1969; Puyt *et al.*, 1995). No caso de ser adicionada uma substância potencialmente tóxica a análise seria ineficaz. A adição do formol implica a impossibilidade de pesquisar compostos alcalinos (Pinto da Costa, 1999). Pelo exposto, as amostras devem ser enviadas congeladas ou refrigeradas e sem adição de antisépticos, fixadores ou conservantes (Bartíc e Piskač, 1981; Lorgue *et al.*, 1996). No entanto, o sangue beneficia da adição do fluoreto de sódio na concentração de 1% para a pesquisa de álcool ou ácido cianídrico (Pinto da Costa, 1999), pela técnica de cromatografia gasosa.

Também não se deve proceder à diluição das amostras, pois esse procedimento irá interferir no doseamento do produto tóxico e posterior avaliação da toxicidade do mesmo.

Envio das amostras seleccionadas para o laboratório

Face à dificuldade existente no diagnóstico toxicológico, a colheita de informações precisas é indispensável para o analista toxicológico e será um precioso auxílio para a elaboração de um diagnóstico correcto. A elaboração de um relatório completo, no qual devem ser enumeradas as amostras enviadas, é de crucial importância. Para o laboratório de análises toxicológicas deve enviar-se sempre uma cópia do relatório da necrópsia. No relatório elaborado pelo Médico Veterinário clínico devem constar as seguintes informações: identificação completa do Médico Veterinário; dados do proprietário (morada e profissão-riscos profissionais, por exemplo o proprietário de uma quinta tem fácil acesso a pesticidas); espécie, raça, sexo, idade e peso do(s) animal(ais) afectado(s); anamnese completa; exame clínico detalhado; modo de vida do animal; número de animais afectados; morbilidade e mortalidade; eventuais conjecturas (utilização de pesticidas, tintas, raticidas ou moluscicidas, envenenamentos); descrição completa dos sintomas (incluindo o desenvolvimento cronológico dos mesmos); tratamentos aplicados (substância activa, posologia e frequência de administração) e resposta à terapia; tipo de amostra; qualquer informação que possa auxiliar o laboratório a identificar o agente ou agentes tóxicos responsáveis (Lorgue *et al.*, 1985; Poppenga e Braselton, 1990; Puyt *et al.*, 1995). Convém colocar todas as informações, a enviar para o laboratório de análises toxicológicas, no interior de uma bolsa plástica.

Expedição da amostra para o laboratório

A expedição das amostra para análise deve permitir uma correcta conservação dos tóxicos nela presen-

tes e evitar a desnaturação e/ou a contaminação das mesmas. O acondicionamento adequado das amostras a enviar para laboratório condiciona a qualidade da resposta do mesmo.

Cada amostra deve ser colocada num recipiente individual de vidro ou de plástico resistente, de preferência plástico alimentar. Pela sua fragilidade as garrafas ou luvas de plástico não estão indicadas (Lorgue *et al.*, 1996). A dimensão do recipiente deve ser adequada à amostra e o bocal suficientemente largo para que o material seja retirado com facilidade, este não deve ser totalmente cheio, porque a fermentação pode ocorrer com frequência, em particular quando se envia conteúdo estomacal, o seu encerramento pode ser reforçado com fita adesiva ou parafilme (Pires e Pires, 1995), apesar deste material não garantir a estanquicidade do fecho da embalagem. Não devem colocar-se em contacto com a amostra material absorvente como é o caso do algodão, lã, gaze ou outro tipo de tecido (Lorgue *et al.*, 1996). O melhor meio para conservar as amostras é o frio, pelo que pode juntar-se um acumulador térmico (Pouliquen, 1999). Cada amostra deve ser identificada no exterior da sua embalagem em relação à natureza do órgão ou tecido, nome do animal e nome do proprietário (Puyt *et al.*, 1995), com letra legível e tinta indelével (Pires e Pires, 1995). A embalagem onde se coloca o recipiente que contém a amostra deve ser hermética, isotérmica e sólida. É importante que o recipiente esteja perfeitamente fechado para evitar derrames quer pelas transportadoras quer pelos funcionários do laboratório. As caixas de poliestireno utilizadas para transportar medicamentos podem ser reutilizadas no transporte de amostras. A embalagem não deve ser frágil para poder resistir às manipulações, por vezes violentas, das transportadoras (Puyt *et al.*, 1995).

Devido à dificuldade existente em manter frescas as amostras, as mesmas devem ser enviadas o mais rapidamente possível e é de evitar a sua expedição durante o fim de semana. Em Portugal a embalagem poderá ser enviada por uma companhia transportadora ou então pelos CTT/ Correios de Portugal SA, desde que devidamente acondicionada. De acordo com as normas vigentes no serviço de correios de Portugal, o recipiente que contém a amostra deverá ser expedido numa embalagem dupla, com o espaço entre as duas preenchido por material absorvente como o algodão, serrim ou papel. No caso do recipiente ser pequeno, este poderá ser enviado em envelope almofadado. O remetente e o destinatário deverão estar indicados na embalagem.

Em Portugal pode ser solicitada a pesquisa de compostos tóxicos ao Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (Porto e Lisboa), à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa e ao Instituto de Medicina Legal (Porto, Coimbra e Lisboa), antes de enviar o material para o laboratório é sempre aconselhável contactar previamente o mesmo.

Toxicologia forense

O termo toxicologia forense descreve a aplicação da ciência que estuda os compostos tóxicos para elucidar as questões levantadas durante um processo judicial (Jackson, 1986). Após o envenenamento intencional de um animal, quer tenha ocorrido morte ou não, e sempre que o proprietário o deseje, devem ser recolhidas amostras que funcionam como provas perante o sistema judicial Português. O envenenamento de um animal é considerado um crime de dano, sendo a conduta do responsável pelo acto abrangida pela punição prevista no artigo 212-1º do Código Penal vigente. O proprietário do animal envenenado deve participar à Polícia de Segurança Pública ou ao Ministério Público, fora das áreas urbanas deverá contactar-se a Guarda Nacional Republicana. O Ministério Público abre um inquérito com vista à recolha de indícios que permitam a acusação do suspeito e a posterior submissão a julgamento. Perante estes casos é absolutamente necessário que o Médico Veterinário tenha presente certos aspectos: a) se o animal morreu o Médico Veterinário deve realizar uma necropsia completa e detalhada; b) como o composto tóxico não é conhecido devem recolher-se o maior número possível de amostras e de informações; c) as amostras recolhidas devem ser cuidadosamente acondicionadas e enviadas para o laboratório.

Conclusões

O tratamento imediato de uma intoxicação não depende da análise toxicológica, mas sim dos sinais clínicos e da anamnese. Na maioria dos casos o tratamento sintomático realiza-se em função da perturbação das funções vitais e das alterações biológicas. Em determinados casos, a análise toxicológica é indispensável para proceder a terapêutica posterior, para confirmar a eficácia e determinar a aplicação de tratamentos específicos, como é o caso da administração do etanol ou do 4-metilpirazole na intoxicação pelo etilenoglicol.

Uma análise toxicológica implica, muitas vezes, a realização de inúmeros ensaios, daí que por vezes o seu limite seja condicionado pela qualidade e quantidade da amostra enviada, pelo que será preferível o envio de amostras em demasia. Para um determinado estudo toxicológico, a selecção da amostra adequada, e em bom estado, acompanhada de informação precisa e completa é, sem dúvida, uma garantia para o êxito do diagnóstico. Tendo em consideração o contexto afectivo e socio-económico que envolve o proprietário de um animal morto, o clínico deverá, face a uma suspeita de intoxicação, conhecer as normas de colheita e conservação das amostras.

Agradecimentos

À Dr^a Ana Monteiro, procuradora adjunta do Ministério Público, pela preciosa colaboração no esclareci-

mento dos procedimentos a adoptar perante um caso de envenenamento.

Ao Dr^o Rui Rangel do Instituto de Medicina Legal do Porto, pela disponibilidade na consulta de bibliografia.

À Dr^a Paula Monsanto do Instituto de Medicina Legal de Coimbra, pelos inúmeros esclarecimentos.

Bibliografia

- Barragry, T.B. (1994). *Veterinary Drug Therapy*. Lea &Febiger (Filadelfia), 194-219.
- Bartíc e Piskač (1981). *Veterinary Toxicology*. Elsevier Scientific Publishing Company. (Amsterdão), 29-31.
- Casteel, S.W. (2001). Lead. In: *Small Animal Toxicology*. Editores: Peterson e Talcott. Saunders (Filadelfia), 537-547.
- Dorman, D.C. (1999). Diagnosis and treating toxicoses in dogs and cats. *Veterinary Medicine*, 94(3), 273-287.
- Drellich, S. e Aldrich, J. (2001). Initial management of the acutely poisoned patient. In: *Small Animal Toxicology*. Editores: Peterson e Talcott. Saunders (Filadelfia), 99-113.
- Feuillu, A. (2000). Dosages toxicologiques en urgence. *Ann Biol Clin*. 58(6), 753-754.
- Galey, F.D. (1995). Diagnostic and forensic toxicology. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 11(3): 443-454.
- Galey, F.D. (2001). Approach to diagnosis and initial treatment of the toxicology case. In: *Small Animal Toxicology*. Editores: Peterson e Talcott. Saunders (Filadelfia), 99-113.
- Galey, F.D. e Hall, J.O. (1990). Field investigations of small animal toxicoses. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 20(2), 283-291.
- Garland, T. (1997). Toxicologia Geral e Manejo. In: *Segredos em Medicina Veterinária*. Editores: Wayne E., Wingfield e colaboradores. ARTMED (São Paulo), 423-429.
- Grauer, G.F.E. e Osweiler, G.D. (1992). Toxicology. In: *Handbook of small animal practice*. 2ª Edição. Editores: Morgan Rhea V. Churchill Livingstone (Nova Iorque), 1301-1304.
- Gutiérrez, J.B.E. e Salsamendi, A.L.C. (2001). Fundamentos de ciencia toxicológica. Diaz de Santos (Madrid), 1-344.
- Hooser, S.B. e Talcott, P.A. (2001). Mycotoxins. In: *Small Animal Toxicology*. Editores: Peterson e Talcott. Saunders (Filadelfia), 593-599.
- Jackson, J.V. (1986). Forensic Toxicology. In: *Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids, and post mortem material*. Editores: Jackson J. V., Moss M. S., Widdop B. The Pharmaceutical Press (Londres), 35-41.
- Jolly, D.W. (1969). The management of cases of suspected poisoning. *The Veterinary Record* 84 (7), 166-168.
- Klaasen, C.D. e Rozman, K. (1991). Absorption, distribution and excretion of toxicants. In: *Casarett and Doull's - Toxicology the basic science of poisons*. Editores: Amdur M. O., Doull J., Klaassen C. D. 4ª Edição. Pergamon press (Nova Iorque), 50-87.
- Lorgue, G., Lechenet, J. e Rivière, A. (1996). *Clinical Veterinary Toxicology*. Blackwell Science (Londres), 19-29.
- Miranda, M., López Alonso, M., Castillo, C., Hernández, J. e Benedito, J.L. (2001). Manejo general del perro y gato intoxicado. *Consulta Difus. Vet.* 9(81):53-62.
- Osweiler, G. (1996). *NVMS Toxicology*. Lippincott Williams & Wilkins (Filadelfia), 37-46.
- Osweiler, G. (1999). Laboratory diagnostic toxicology. In: *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. 3ª edição. Editores: Willard M. D., Tvedten H., Turnwald G. H. W. B. Saunders Company (Filadelfia), 333-347.
- Pappas, A.A., Massol, N.A. e Cannon, D.J. (1999). Toxicology: Past, present, and future. *Annals of clinical and laboratory science*. 29(4): 253-262.

- Peterson, M. E. (2001). Toxicologic decontamination. In: Small Animal Toxicology. Editores: Peterson e Talcott. Saunders (Filadelfia), 85-98.
- Pinto da Costa, J. (1999). Aspectos Médico-Legais das intoxicações. In: Manual de antídotos. Eds. Lopes M., Barrosa M. T., Maia P., Martins H., Monteiro T., Pinho C., Reis E. Grupo de Toxicologia do Hospital de Santo António (Porto), 49-56.
- Pires, M.A. e Pires, I. (1995). Exame histopatológico: regras essenciais para a recolha e envio do material para análise. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. 90 (516): 171-180.
- Poppenga, R.H. e Braselton, W.E. (1990). Effective use of analytical laboratories for the diagnosis of toxicologic problems in small animal practice. *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 20(2): 293-306.
- Poppenga, R.H. (1999). Toxicological emergencies. In: Manual of canine and feline emergency and critical care. Editores: King L., Hammond R. British Small Animal Veterinary Association (Londres), 219-233.
- Pouliquen, H. (1999). Les prélèvements lors de suspicion d'intoxication chez les carnivores domestiques et les NAC: aspects pratiques et juridiques. *Le Point Veterinaire* 30(203):23-31.
- Puyt, J.D., Matray, O. e Joseph-Enriquez, B. (1995). Les prélèvements dans les intoxications des animaux domestiques. *Recueil de Médecine Vétérinaire-Special:1 Toxicologie des carnivores domestiques*. 171(2/3): 101-108.
- Repetto, M. (1997). Toxicologia Fundamental. 3ª Edição. Diaz de Santos (Madrid), 337-351.
- Roder, J.D. (2001). Veterinary Toxicology. Butterworth Heinemann (Boston), 367-385.
- Turk, J.R. e Casteel, S.W. (1997). Clinical biochemistry in toxicology. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5ª Edição. Editores: Kaneko J. J., Harvey J. W. e Bruss M. L. Academic Press (San Diego): 829-843.
- Tussel, J.P., Chevalier, D.P. e Gopegui, R.R. (2001). Intoxicación por plomo en el perro: Caso clínico. *AVEPA* 21(1): 37-42.
- Wenning, R. (2000). Threshold values in toxicology-useful or not. *Forensic Science International* 113, 323-330.