

Pedro Carlos Lucas de Oliveira

ESTUDO COMPARATIVO DO VENENO
BOTRÓPICO (*Bothrops jararaca*) NATIVO E
IRRADIADO COM ^{60}Co EM CAPRINOS.
ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu para obtenção do título de Doutor em Clínica Veterinária.

ORIENTADORA: Profa. Ass. Dra. Michiko Sakate

BOTUCATU

2003

Pedro Carlos Lucas de Oliveira

ESTUDO COMPARATIVO DO VENENO
BOTRÓPICO (*Bothrops jararaca*) NATIVO E
IRRADIADO COM ^{60}Co EM CAPRINOS.
ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu para obtenção do título de Doutor em Clínica Veterinária.

ORIENTADORA: Profa. Ass. Dra. Michiko Sakate

BOTUCATU

2003

À Prof.^a Ass. Dra. Michiko Sakate

Cada um que passa em nossa vida,
passa sozinho,
mas não vai sozinho e não nos deixa sozinhos,
leva um pouco de nós e deixa um pouco de si.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho foi possível perante a colaboração de inúmeras pessoas. A todos agradeço e, em especial:

ao Corpo Docente do Curso de Pós-Graduação em Clínica Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, UNESP, pelo conhecimento adquirido em suas disciplinas;

à Universidade de Uberaba, UNIUBE, ao Hospital Veterinário de Uberaba, HVU, e à Associação Brasileira de Criadores de Zebu, ABCZ, pelo incentivo à minha pós-graduação;

aos professores, funcionários e alunos do Hospital Veterinário de Uberaba, pelo apoio profissional na realização deste trabalho;

ao Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP), da UNESP de Botucatu, pelo apoio técnico na obtenção e preparo do veneno de serpente *Bothrops jararaca* utilizado na intoxicação experimental dos caprinos;

ao Instituto de Pesquisas em Energéticas e Nucleares (IPEN), da Universidade de São Paulo (USP), principalmente representado na pessoa da Dra. Nanci Nascimento, pela irradiação do veneno de serpente *Bothrops jararaca* em bomba de cobalto-60;

aos alunos Ricardo de Assis Madruga e Newton Pimentel de Ulhôa Barbosa, do Curso de Medicina Veterinária da UNIUBE, pela inestimável colaboração na realização do experimento;

à Profa. Dra. Joely Ferreira Figueiredo Bittar, à Médica Veterinária Marli Kanayama e ao técnico de laboratório Luciano Bernardino de Freitas pelo empenho na realização dos exames laboratoriais contidos neste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE QUADROS

RESUMO

ABSTRACT

1- INTRODUÇÃO	01
2- REVISÃO DA LITERATURA	05
3- OBJETIVOS	15
4- MATERIAL E MÉTODO	17
4.1 Animais experimentais	17
4.2 Manutenção dos animais	17
4.3 Obtenção do veneno	18
4.4 Irradiação do veneno	18
4.5 Intoxicação dos animais	18
4.6 Momentos das coletas	19
4.7 Exames físicos dos animais	19
4.8 Exames laboratoriais	20
4.9 Análise dos resultados	22
4.10 Procedimento estatístico	22
5- RESULTADOS	23

5.1. TEMPERATURA RETAL, FREQUÊNCIA CARDÍACA, PULSO E FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA	23
5.2. EXAME CLÍNICO	23
5.3. ALTERAÇÕES LOCAIS	23
5.3.1. Presença de solução de continuidade, hemorragia e necrose	23
5.3.2. Presença de edema	24
5.3.3. Presença de calor	26
5.3.4. Presença de dor	28
5.3.5. Presença de rubor	30
5.4. ERITROGRAMA	33
5.4.1. Contagem de hemácias	33
5.4.2. Volume globular	35
5.4.3. Nível sérico de hemoglobina	37
5.5. LEUCOGRAMA	40
5.5.1. Contagem de leucócitos	40
5.5.2. Contagem de metamielócitos e basófilos	42
5.5.3. Contagem de bastonetes	42
5.5.4. Contagem de neutrófilos	44
5.5.5. Contagem de linfócitos	46
5.5.6. Contagem de monócitos	48
5.5.7. Contagem de eosinófilos	50
5.6. PERFIL DE HEMOSTASIA	53
5.6.1. Tempo de coagulação	53

5.6.2. Contagem de plaquetas	55
5.7. PARÂMETROS DE BIOQUÍMICA SÉRICA	58
5.7.1. Uréia	58
5.7.2. Creatinina	60
5.7.3. Creatina quinase (CK)	62
5.7.4. Aspartato aminotransferase (AST)	64
5.7.5. Alanino aminotransferase (ALT)	66
5.8. NÍVEIS SÉRICOS DE IMUNOGLOBULINAS TOTAIS	69
6- DISCUSSÃO	71
7- CONCLUSÕES	81
REFERÊNCIAS	84
APÊNDICE	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Protocolo de intoxicação dos animais do grupo inoculado com veneno nativo (GIVN) e grupo inoculado com veneno irradiado (GIVI).

Tabela 2. Desenvolvimento de edema inflamatório local (notas de 0 a 4, sendo 0 a ausência de edema e 4 o edema mais intenso observado) nos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes da inoculação dos venenos botrópicos e de um a oito dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 3. Desenvolvimento de calor inflamatório local (notas de 0 a 4, sendo 0 a ausência de calor e 4 o calor mais intenso observado) nos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes da inoculação dos venenos botrópicos, e de um a oito dias após esta inoculação, incluindo média obtida a partir dos dados.

Tabela 4. Desenvolvimento de dor local (notas de 0 a 4, sendo 0 a ausência de dor e 4 a dor mais intensa observada) nos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes da inoculação dos venenos botrópicos, e de um a nove dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 5. Desenvolvimento de rubor inflamatório local (notas de 0 a 4, sendo 0 a ausência de rubor e 4 o rubor mais intenso observado) nos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes da inoculação dos venenos botrópicos e de um a nove dias após esta inoculação, incluindo média obtida a partir dos dados.

Tabela 6. Contagens de hemácias ($\times 10^6$) nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 7. Valores de volume globular (%) mensurados nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 8. Níveis séricos de hemoglobina (g/dL) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 9. Contagens de leucócitos (células/mm³) obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 10. Contagens de bastonetes (células/mm³) obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 11. Contagens de neutrófilos (células /mm³) obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 12. Contagens de linfócitos (células /mm³) obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e

um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 13. Contagens de monócitos (células /mm³) obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 14. Contagens de eosinófilos (células /mm³) obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 15. Tempos de coagulação, em minutos, observados em sangue total, dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 16. Contagens de plaquetas (unidades /mm³) executadas em sangue total dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos, um, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 17. Níveis séricos de uréia (mg/dL) dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 18. Níveis séricos de creatinina (mg/dL) dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 19. Níveis séricos de creatina quinase (U/L) dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 20. Níveis séricos de aspartato aminotransferase (U/L) dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 21. Níveis séricos de alanino aminotransferase (U/L) dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

Tabela 22. Valores séricos de imunoglobulinas totais (g/dL) obtidos dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Médias, dos valores atribuídos à intensidade dos edemas locais desenvolvidos pelos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 2. Médias, dos valores atribuídos à intensidade do calor local desenvolvido pelos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 3. Médias, dos valores atribuídos à intensidade da dor local desenvolvida pelos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 4. Médias, dos valores atribuídos à intensidade do rubor local desenvolvido pelos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 5. Médias, dos valores de contagem de hemácias ($\times 10^6$) nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 6. Médias, dos valores de volume globular (%) nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 7. Médias, dos valores de hemoglobina (g/dL) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 8. Médias, dos valores de contagem de leucócitos (células / mm^3) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 9. Médias, dos valores de contagem de bastonetes (células /mm³) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 10. Médias, dos valores de contagem de neutrófilos (células /mm³) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 11. Médias, dos valores de contagem de linfócitos (células /mm³) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 12. Médias, dos valores de contagem de monócitos (células /mm³) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 13. Médias, dos valores de contagem de eosinófilos (células /mm³) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 14. Médias, dos valores de tempo de coagulação, em minutos, do sangue total dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 15. Médias, dos valores de contagem de plaquetas (unidades/mm³) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 16. Médias, dos valores séricos de uréia (mg/dL) dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 17. Médias, dos valores séricos de creatinina (mg/dL) dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 18. Médias, dos valores séricos de creatina quinase (U/L) dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 19. Médias, dos valores séricos de aspartato aminotransferase (U/L) dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 20. Médias, dos valores séricos de alanino aminotransferase (U/L) dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Figura 21. Médias, dos valores de imunoglobulinas séricas totais (g/dL) dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Gráficos, representativos das evoluções do edema, calor, dor e rubor locais nos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Quadro 2. Gráficos, representativos das evoluções das contagem de hemácias (células x $10^6/\text{mm}^3$), mensurações de volume globular (%) e hemoglobina (g/dL) em sangue total dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Quadro 3. Gráficos, representativos da evolução das contagens totais e diferenciais de leucócitos (células/ mm^3) em sangue total dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Quadro 4. Gráficos, representativos das evoluções das contagem de plaquetas (unidades/ mm^3) e mensurações do tempo de coagulação (minutos) em sangue total dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Quadro 5. Gráficos, representativos da evolução de parâmetros bioquímicos séricos dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

OLIVEIRA, P.C.L. Estudo comparativo do veneno botrópico (*Bothrops jararaca*) nativo e irradiado com ^{60}Co em caprinos. Aspectos clínicos e laboratoriais Botucatu, 2003. 100p. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

Sabe-se que o veneno das serpentes do gênero *Bothrops* possui ação proteolítica, coagulante, hemorrágica e nefrotóxica, gerando edema, necrose, hemorragia, intensa dor no local da picada, hemorragias internas, hipotensão, insuficiência renal, choque, aumentos na contagem total de leucócitos, segmentados e bastonetes, no hematócrito, na hemoglobina e no nível sérico de creatinina. Vários adjuvantes foram adicionados aos venenos, empregados na sensibilização dos animais produtores do soro, visando aumentar o estímulo antigênico e reduzir os efeitos patológicos da intoxicação. A radiação gama com ^{60}Co vem sendo utilizada como agente atenuante da propriedade tóxica dos venenos. Este trabalho teve por objetivo geral estudar, comparativamente, os aspectos clínicos e laboratoriais de caprinos inoculados com veneno botrópico (*Bothrops jararaca*) nativo e irradiado com ^{60}Co . Assim, 12 caprinos foram divididos em dois grupos de seis animais, GIVN, inoculados com 0,5 mg/kg de veneno nativo, e GIVI, inoculados com 0,5 mg/kg de veneno irradiado (GIVI). Amostras de sangue foram coletadas imediatamente antes da inoculação dos venenos e um, dois, sete e trinta dias após. As lesões locais foram avaliadas diariamente quanto à presença ou não de edema, calor, dor, rubor, solução de continuidade, hemorragia e necrose. Foram procedidos os seguintes exames: hemograma, bioquímicos de uréia, creatinina, creatino quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST), alanino aminotransferase (ALT), tempo de coagulação, contagem de plaquetas e mensuração de imunoglobulinas séricas totais. Perante às condições deste

experimento, pode-se concluir que o veneno irradiado é menos agressivo e mais imunogênico, demonstrado por sinais locais mais brandos; menores aumentos dos tempos de coagulação, níveis séricos de uréia e enzimas musculares, quedas menos intensas nos valores de hemoglobina, contagem de hemáceas e volume globular; contagens globais de leucócitos mais intensas e mais persistentes; contagens diferenciais de leucócitos maiores para bastonetes e linfócitos e menores para neutrófilos e eosinófilos. O veneno, na dose de 0,5 mg/kg, não interfere nos níveis séricos de creatinina e na contagem de monócitos e plaquetas, porém causa agregação plaquetária. A inoculação única em caprinos, sem sensibilização prévia, com veneno de serpente *Bothrops jararaca* nativo ou irradiado em bomba de ^{60}Co , não gera alterações nos níveis séricos de imunoglobulinas totais.

OLIVEIRA, P.C.L. Comparative study of the bothropic venom (*Bothrops jararaca*) native and irradiated with ^{60}Co on caprines. Clinical and laboratories aspects. Botucatu, 2003. 100p. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

It is known that the snake venoms of the *Bothrops* genus are proteolytic, coagulant, hemorrhagic and nephrotoxic, causing edema, necrosis, hemorrhage and intense pain at the place of the bitten, internal hemorrhages, hipotension, renal failure, chock, increases on the total leukocytes count, neutrophils and band neutrophils count, on the globular volume, hemoglobin concentration and creatinine serum level. Many adjuvants have been added to the venom, used in the sensibilization of the antisera producers animals, in other to increase the antigenic induction and reducing the intoxication pathologic effects. The gamma radiation from ^{60}Co has been used as an attenuating agent of the venoms toxic proprieties. This work had the main objective to study, comparatively, the clinical and laboratories aspects on caprines inoculated with the bothropic venom (*Bothrops jararaca*), native and irradiated from ^{60}Co source. Thus, 12 caprines were divided into two groups of six animals, GIVN, inoculated with 0,5 mg/kg of native venom, and GIVI, inoculated with 0,5 mg/kg of irradiated venom (GIVI). Blood samples were collected immediately before the venoms inoculation and one, two, seven and thirty days after. The local lesions were daily evaluated for the presence or not of edema, hotness, pain, redness, continuity solution, hemorrhage and necrosis. The following exams were realized: hemogram, biochemical of urea, creatinine, creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), time of coagulation, platelets count and mensuration of total serum immunoglobulin. In the conditions of this experiment, it can be

conclude that the irradiated venom is less aggressive and more immunogenic, showed by moderate local signs; smaller increases on the coagulation time and on urea and muscular enzymes serum levels, less intense reduces in the values of hemoglobin, erythrocytes count and globular volume; more intense and persistent leukocytes global count; leukocytes differential count higher for band neutrophils and lymphocytes and lower for neutrophils and eosinophils. The venom, at the dose of 0,5 mg/kg, does not interfere on creatinine serum levels and monocytes and platelets count, but leads to platelets aggregation. The single inoculation in caprines, without previous sensibilization, with the *Bothrops jararaca* native or irradiated from ^{60}Co venom, does not lead to alterations in the total immunoglobulin serum levels.

1- INTRODUÇÃO

As serpentes são répteis que evoluíram dos lagartos há mais de 130 milhões de anos. Venenosas ou não, sempre exerceram um secreto fascínio nos homens. Para alguns povos orientais, elas são representantes de deuses, para outros personificam o mal. No símbolo da Medicina Veterinária, a serpente representa a enfermidade, e o bastão representa o remédio contra a doença (Oliveira, 1999).

Estes animais devem ser respeitados e considerados importantes no ecossistema da Terra. A completa eliminação das serpentes traria grave desequilíbrio à natureza. Apesar de não serem bem vistas pelos homens, principalmente os de cultura ocidental, as serpentes prestam grande contribuição à humanidade, pois participam do controle de pequenos roedores que, por se reproduzirem muito rapidamente, são devoradores das safras de grãos e transmissores de doenças. Portanto, as serpentes não devem ser indistintamente perseguidas e eliminadas (Oliveira, 1999).

As serpentes venenosas possuem distribuição geográfica mundial (Belluomini, 1984), sendo que no Brasil ocorrem quatro gêneros: *Crotalus*, *Bothrops*, *Micrurus* e *Lachesis* (Rosenfeld et al., 1970). O segundo gênero é o mais importante, pois concentra o maior número de espécies (em número de trinta), sendo que as seguintes são as principais: *B. jararaca*, *B. jararacussu*, *B. alternatus*, *B. moojeni*, *B. neuwiedi* e *B. atrox*. Além da variedade e número de espécies do gênero *Bothrops*, o comportamento mais agressivo destas serpentes faz com que os acidentes sejam mais frequentes e, portanto, de grande

importância clínica (Rosenfeld et al., 1970; Oliveira, 1999). O trabalhador rural ainda é a vítima mais freqüente dos acidentes ofídicos, e os acidentes com serpentes do gênero *Bothrops* ainda são os mais comuns (Bochner, Struchiner, 2003). Dentre as espécies do gênero *Bothrops*, a *B. jararaca* é a mais comum, por exemplo, de 817.688 serpentes recebidas pelo Instituto Butantan até dezembro de 1977, 419.597 correspondiam a esta espécie (Belluomini, 1984).

Como se pode observar, a intoxicação por veneno de serpente é comum e de grande importância médica e médica veterinária no Brasil, sobretudo, aqueles acidentes causados por serpentes da espécie *B. jararaca*. Ocorrem cerca de 20 mil acidentes ofídicos por ano no Brasil, notificados ao Ministério da Saúde, incorrendo em cerca de 100 óbitos por ano (Barraviera, 1993; Oliveira, 1999).

Segundo à dentição, as serpentes podem ser classificadas em quatro grupos: áglifas, opistóglifas, proteróglifas e solenóglifas. A *B. jararaca* pertence ao grupo das solenóglifas, cuja dentição se caracteriza por dentes bem desenvolvidos, móveis, situados anteriormente de cada lado do maxilar superior, grandes, pontiagudos e com um canal central que lembra uma agulha de injeção em forma de bisel (Belluomini, 1984; Oliveira, 1999).

O veneno das serpentes do gênero *Bothrops* possui diversas características que ainda não estão totalmente elucidadas, porém, sabe-se que este veneno possui ação coagulante, proteolítica e hemorrágica (Rosenfeld et al., 1970; Oliveira, 1999).

Em 1897, Vital Brazil iniciou o desenvolvimento da produção do soro antiofídico contra o veneno de serpentes brasileiras, constituindo o único

tratamento que neutraliza a peçonha destes animais, desde então, tem salvado milhares de vidas (Oliveira, 1999).

Ao longo da história da produção dos soros antiofídicos, alguns animais domésticos como eqüinos, bovinos, ovinos e caprinos foram utilizados como organismos produtores do anticorpo. Porém, em função de seu grande volume sanguíneo e de sua imunocompetência, os eqüinos foram escolhidos como os melhores soroprodutores (Almeida et al., 1998). Vários adjuvantes foram também adicionados ao veneno empregado na sensibilização dos animais produtores do soro, visando aumentar o estímulo antigênico e reduzir os efeitos deletérios da intoxicação (Li, Ownby, 1992).

A radiação gama com ^{60}Co vem sendo utilizada como agente atenuante da propriedade tóxica dos venenos (Nascimento, 1996). A irradiação de materiais biológicos em fonte de ^{60}Co é a mais utilizada por não aquecer o produto, que é sensível às altas temperaturas (Guidolin et al., 1988).

A utilização de animais na produção de soro antiofídico é indispensável até os dias de hoje, entretanto, tais animais sofrem danos orgânicos decorrentes das ações tóxicas dos venenos (Angulo et al., 1997). Portanto, há necessidade de pesquisar mecanismos que reduzam esses danos e que mantenham a resposta imune adequada à soroprodução.

A irradiação de venenos em fonte de ^{60}Co talvez se mostre um mecanismo eficiente para reduzir os efeitos tóxicos dos venenos e, ao mesmo tempo, manter ou até incrementar a resposta imune no animal inoculado para fins de

soroprodução, pois a energia eletromagnética deste elemento não aquece o produto da irradiação (Guidolin et al., 1988).

Apenas três instituições governamentais brasileiras dedicam-se à produção de antiveneno para utilização nestes tipos de acidentes, que são: o Instituto Butantan em São Paulo, o Instituto Ezequiel Dias em Minas Gerais e o Instituto Vital Brazil no Rio de Janeiro (Oliveira, 1999) e, também algumas empresas privadas se dedicam a esta produção. Para viabilizar essas produções, esses institutos ou empresas necessitam manter grandes fazendas para criação de centenas de cavalos soroprodutores. Esses animais são de manutenção onerosa em função de seu porte e mesmo de sua natureza física mais exigente (Torres, Jardim, 1987). Já os caprinos são animais de exigências modestas, sobrevivendo em ambientes inóspitos, como a região de clima semi-árido do Nordeste brasileiro (Pinheiro Júnior, 1973). Portanto, os caprinos podem ser criados a custos muito baixos e em áreas consideradas impróprias para a lavoura ou mesmo para a pecuária bovina (Pinheiro Júnior, 1973).

Outros inconvenientes do uso de cavalos para soroprodução são: resposta imunomediada muito forte com formação de abscessos no local da inoculação (Sjostrom, 1994), e grande sensibilidade dos humanos às proteínas dos cavalos, podendo causar reação anafilática tipo I (Russell et al., 1970). Desta forma, julga-se importante verificar a viabilidade imunológica dos caprinos como animais produtores de soro antibotrópico, utilizando para isto, veneno nativo ou irradiado.

2- REVISÃO DA LITERATURA

No Brasil a principal serpente venenosa causadora de acidentes é a *B. jararaca*, seguida pelas *Crotalus durissus terrificus*, *B. jararacussu*, *B. alternatus*, *B. neuwiedi* e *B. atrox* (Rosenfeld et al., 1970).

As serpentes *B. jararaca* estão presentes em quase todo território brasileiro, vivendo nos mais diferentes locais, como em cima de árvores, enterradas, entocadas, nas margens dos rios e em baixadas, cerrados, matas e capoeiras (Oliveira, 1999), sendo freqüentemente encontradas perto das habitações humanas (Bürcherl, 1980; Belluomini, 1984). Entretanto, Sazima (1983) relatou que as serpentes *B. jararaca* são raramente encontradas totalmente expostas aos raios solares, sendo mais comum encontrá-las em locais parcialmente sombreados. Este autor também relatou que as serpentes desta espécie são mais ativas ao crepúsculo e à noite, em temperaturas entre 19° a 31° C e umidade relativa entre 68 a 100%.

As táticas defensivas das jararacas podem ser escalonadas como imobilidade, fuga, enrodilhamento e bote (Sazima, 1983).

A maioria dos acidentes ofídicos no Brasil é causada por serpentes do gênero *Bothrops*, com 95,03 % de prevalência sobre aqueles causados por outros gêneros de serpentes (Ribeiro, 1991). De 160 serpentes classificadas por Ribeiro (1991), 142 pertenciam à espécie *B. jararaca*. Barraviera et al. (1989) relataram que 80% dos acidentes ofídicos ocorridos na região de Botucatu são causados por serpentes do gênero *Bothrops*.

O trabalhador rural ainda é a vítima mais freqüente dos acidentes ofídicos, e os acidentes com serpentes do gênero *Bothrops* ainda são os mais comuns (Bochner, Struchiner, 2003).

Além do homem, a maioria dos animais domésticos também é sensível ao veneno do gênero *Bothrops*, sendo que equinos, bovinos e ovinos são os mais sensíveis, seguidos pelos caprinos, caninos, coelhos, suínos, cobaias, camundongos, felinos, hamsters e o rato, sendo o último o menos sensível de todos (Araújo, Belluomini, 1962).

O veneno das serpentes é constituído por uma complexa mistura de enzimas, proteínas e peptídeos, com ação proteolítica, coagulante, hemorrágica e nefrotóxica (Russell, 1983; Markland, 1998; Oliveira, 1999) e, pelo menos, 26 enzimas já foram caracterizadas. Dez das enzimas identificadas são comuns às serpentes de famílias distintas, estando presentes em diferentes concentrações em cada família (Russell, 1983).

Para as serpentes o veneno possui função digestiva, por meio de suas propriedades proteolíticas (Rosenfeld et al., 1970). A ação proteolítica baseia-se nas enzimas contidas no veneno botrópico, que provocam a decomposição de proteínas, destruindo o tecido e causando grave necrose no local da picada. A enzima mais conhecida é a fosfolipase A₂, capaz de causar dano à membrana plasmática da célula muscular, destruir organelas intracelulares, permitir aumento no afluxo de íons Cálcio e incrementar o efluxo de creatinina e creatina quinase (Barraviera, 1993; Oliveira, 1999). O aumento da concentração de Cálcio intracelular pode causar liberação de enzimas lisossomais e necrose tecidual

(Hudelson, Hudelson, 1995). Gutierrez et al. (1984) relataram que, associada às ações miotóxicas da fosfolipase, a isquemia celular decorrente de hemorragias também participa na formação da necrose tecidual. Outras substâncias relacionadas à ação proteolítica do veneno botrópico são os fatores hemorrágicos HF1, HF2 e HF3 (Assakura et al., 1986) e a botropasina (Queiroz et al., 1985).

A ação coagulante está intimamente relacionada à ação hemorrágica da peçonha botrópica, pois a coagulação intravascular decorrente das ações do veneno esgota o sistema de coagulação sanguínea, com manifestações na forma de hemorragias (Rosenfeld et al., 1970; Oliveira, 1999). Do ponto de vista bioquímico, o veneno botrópico age interferindo na hemostasia (Zingali et al., 1988). Esta ação ocorre pelo estímulo à coagulação, pela transformação do fibrinogênio em fibrina, derivada da ativação da protrombina e do fator X da cascata de coagulação (Rosenfeld et al., 1959; Nahas et al., 1979; Marlas et al., 1983; Kamiguti, Cardoso, 1989; Barraviera, Pereira, 1994; Oliveira, 1999). Sano-Martins et al. (1995) relataram que a coagulopatia observada em cães é semelhante àquela identificada em seres humanos. Porém, além da transformação do fibrinogênio em fibrina, derivada da ativação da protrombina e do fator X da cascata de coagulação, também são ativados os fatores II, V e VIII. O desenvolvimento de moderada trombocitopenia colabora na coagulopatia nesse tipo de intoxicação (Sano-Martins et al., 1995).

As substâncias responsáveis pela ação coagulante do veneno botrópico são botrojararacina, capaz de formar um complexo não covalente com a trombina (Zingali et al., 1993; Castro et al., 1999); botrombina, capaz de ativar o fator VIII

da cascata de coagulação (Nishida et al., 1994); e jararagina C, capaz de induzir a agregação plaquetária (Usami et al., 1994). Também a botrocetina participa em atividade agregante plaquetária, porém este fato só foi comprovado *in vitro* (Zingali et al., 1990), entretanto, na presença do fator de von Willebrand, a botrocetina age, definitivamente, como agregante plaquetário por mecanismo desconhecido (Andrews et al., 1989; Usami et al., 1993).

Podem ocorrer hemorragias na ausência de coagulopatia, o que é atribuído à ação vasculotóxica do veneno botrópico, com destruição da membrana basal do endotélio vascular e subseqüente ruptura capilar (Barraviera, Pereira, 1994).

Outros fatores hemorrágicos também têm sido isolados do veneno botrópico (Mandelbaum et al., 1982; Moura da Silva et al., 1990; Robeva et al., 1991; Paine et al., 1992). Muitos destes fatores hemorrágicos possuem atividade enzimática sobre o fibrinogênio prejudicando a formação de fibrina (Markland, 1991). Assim, enzimas como a jararafibrase I e jararafibrase II, com atividade alfa-fibrinogenase, foram descritas por Tanigawa et al. (1993), bem como a jararafibrase III e IV por Maruyama et al. (1993).

A ação nefrotóxica da peçonha botrópica é direta sobre os túbulos renais e endotélio vascular, levando à insuficiência renal aguda grave (Oliveira, 1999). A insuficiência renal causada por venenos de serpentes está primariamente relacionada a efeitos nefrotóxicos da mioglobínúria, hemoglobínúria, coagulação intravascular disseminada, nefropatia tóxica e choque hipovolêmico (Hudelson, Hudelson, 1995). A histopatologia de tecido renal de ratos, experimentalmente intoxicados com veneno de *B. jararaca*, revelou proliferação da matriz mesangial,

alterações dos túbulos caracterizadas por perda da borda em escova e vacuolização citoplasmática (Rezende et al., 1989). Outros autores, como Pinho, Burdmann (2001), Havt et al. (2001), Barbosa et al. (2002) e Boer-Lima et al. (2002), também relataram lesões renais agudas provocadas pelo veneno botrópico.

Alterações locais e/ou sistêmicas são causadas pelo veneno botrópico quando inoculado em tecidos vivos (Rosenfeld et al., 1959; Rosenfeld et al., 1970; Rosenfeld, 1991; Ribeiro et al., 2001). Assim, a aplicação de 0,5 mg/kg de veneno nativo de serpente *B. jararaca*, por via intramuscular no músculo glúteo, é capaz de provocar os sinais clínicos da intoxicação, em bovinos, sem levar à morte (Araújo et al., 1963).

As características da picada são variáveis, podendo ser desde de um arranhão até uma marca puntiforme única ou dupla, não havendo relação entre a distância interposta às duas marcas e as dimensões da serpente ou a quantidade de veneno inoculada (Rosenfeld et al., 1970).

Os acidentes com serpentes podem apresentar diferentes graus de gravidade, os quais são determinados por alguns fatores como: espécie atacada, quantidade de veneno inoculada, número de picadas, tipo de tecido atingido, resposta individual da vítima, que geralmente depende de fatores como peso, idade, estado geral, local da picada (cabeça, tronco ou membros) e tempo decorrido entre o acidente e início do tratamento (Russell, 1983; Murtaugh, Kaplan, 1992). Os acidentes botrópicos incorrem em amputação de membros em 0,7% dos casos, e morte do indivíduo picado em 0,3% dos casos (Ribeiro, Jorge, 1997).

Clinicamente, os acidentes botrópicos caracterizam-se por edema, necrose, hemorragia e intensa dor no local da picada (Oliveira, 1999). Sinais sistêmicos podem manifestar-se na forma de hemorragias internas, hipotensão, insuficiência renal e choque, tudo decorrente das atividades proteolíticas e coagulantes do veneno (Murtaugh, Kaplan, 1992). Oliveira (1999) relatou ainda a presença de bolhas, que podem ser hemorrágicas, calor e rubor no local da picada, enfartamento ganglionar, equimose, vômitos, sudorese, hipotermia e hematúria.

Embora Rosenfeld et al. (1970) tenham relatado que o veneno botrópico não era capaz de atingir o sistema nervoso e, portanto, não havia sinais de comprometimento deste sistema, Mosquera et al. (2003) relataram hemorragias intracranianas e infartos cerebrais em pacientes picados por serpentes do gênero *Bothrops*, e De Souza et al. (2002) relataram que o veneno de *B. jararacussu* poderia causar danos aos axônios no local de inoculação do veneno.

É comum a contaminação bacteriana no local da picada com formação de abscessos, sendo que as bactérias mais freqüentemente encontradas são a *Morganella morganii*, *Providencia rettigeri*, *Enterobacter sp*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* do grupo D e *Bacterioides sp* (Jorge et al., 1993).

O envenenamento botrópico implica em alterações hematológicas, como a hemólise *in vitro* observada por Kelen et al. (1962). Observaram-se também aumentos na contagem total de leucócitos, na contagem de segmentados e bastonetes, bem como no hematócrito e na hemoglobina (Barraviera, 1993).

Em cães, observaram-se leucocitose com neutrofilia, linfopenia, monocitose e trombocitopenia, sendo que o eritrograma não se apresentou

alterado (Sano-Martins et al., 1995). Os níveis séricos de creatina quinase elevam-se pela inoculação de veneno de *B. jararacussu* (Calil-Elias et al., 2002).

A soroterapia específica é o único tratamento eficaz para a neutralização da peçonha ofídica, devendo-se esquecer todos os tratamentos preconizados pela "sabedoria" popular (Oliveira, 1999).

Segundo Brazil (1918), Smirnow foi o primeiro a isolar a antitoxina do soro do cavalo, no ano de 1895, mostrando que a substância ativa se precipitava junto às globulinas, quando se tratava o soro até a saturação com sulfato de magnésio.

A produção de soro consiste na formação de um "pool" de veneno, toxinas ou toxóides dos venenos que é injetado em cavalos. Assim, ocorre a hiperimunização do cavalo pelo estímulo do sistema imune deste animal, que produz anticorpos específicos contra o veneno daquela espécie de serpente. Quando o organismo do cavalo já produziu anticorpos suficientes para neutralizar o veneno, são feitas as sangrias (Guidolin et al., 1989; Oliveira, 1999). O plasma obtido do sangue retirado é submetido a uma variação não fisiológica de pH, temperatura e precipitação com sulfato de amônia para obtenção da fração que contém os anticorpos (Morais, 1994).

Pesquisadores já trabalharam na busca de espécies alternativas para a soroprodução, como coelhos, cabras e ovinos (Russell, Lauritzen, 1966, Russell et al., 1970, Egen, 1994, Rawat, 1994, Dart, 1994 e Sjostrom, 1994).

Para obtenção de maior resposta imune e menor dano ao organismo produtor de soro, adicionam-se ao veneno substâncias denominadas adjuvantes

que retardam a liberação do antígeno para o organismo formando um “depósito” (Guidolin et al, 1989). Geralmente, os adjuvantes utilizados são: alume, Freund completo ou incompleto, lipopolissacarídeos de bactérias Gram negativas, hidróxido de alumínio, fosfato de alumínio, betonita, alginato de sódio, sulfato de berílio, emulsões oleosas. Os adjuvantes mais utilizados são os de Freund completo e incompleto, que consistem na mistura de óleo mineral e agente emulsificante, o primeiro contendo ainda fragmentos de micobactérias que incrementam a resposta imune (Soerensen, 1990).

A irradiação de amostras de venenos de serpentes, visando a soroprodução, deverá ser de grande valor no futuro, substituindo ou sendo somada aos adjuvantes já existentes (Souza-Filho, 1992).

As radiações ionizantes afetam a estrutura das moléculas destruindo suas ligações químicas por ação direta ou indireta. A ação indireta consiste na produção de derivados da radiólise da água (radicais livres hidroxila, íon hidrogênio e elétron desidratado), e a ação direta é a excitação ou ionização do próprio alvo biológico, no caso as substâncias tóxicas do veneno (Costa, Rogero, 1988). A ação indireta só ocorre quando se irradia material em solução, enquanto a ação direta ocorre a seco e em solução. Assim, quando se irradia algum material em solução, os efeitos indiretos se unem aos diretos (Rogero, Nascimento, 1995).

A radiação ionizante consiste na passagem de radiação eletromagnética, ou mesmo de um fóton, através de um material, causando projeção de um elétron de um átomo e resultando na criação de um par de íons, positivo e negativo (Rogero, Nascimento, 1997). Esta técnica vem sendo utilizada na desintoxicação de

venenos de serpentes indianas, associando redução da toxicidade da amostra de veneno e manutenção das propriedades imunológicas sem adição de qualquer substância adjuvante (Kankonkar, 1974).

A radiação gama com ^{60}Co vem sendo utilizada como agente atenuante da propriedade tóxica dos venenos por diversos autores (Salafranca, 1972, 1973; Kankonkar, 1974; Gaitonde, Baride, 1981; Murata, 1987; Murata, Rogero, 1988; Costa, Rogero, 1988; Guidolin et al., 1988; Hati, 1989; Murata, 1990; Rogero, Nascimento, 1995; Nascimento, 1996). A irradiação de materiais biológicos em fonte de ^{60}Co é a mais utilizada por não aquecer o produto, que é sensível às altas temperaturas (Guidolin et al., 1988). A ação da radiação ionizante sobre as proteínas em solução aquosa é seletiva, enquanto, os grupos sulfidríla e carboxila são muito susceptíveis, e a ligação peptídica é radioestável. Portanto, pode-se controlar os danos à amostra irradiada alterando-se a dose de radiação segundo a concentração protéica do veneno, mantendo a imunogenicidade deste e reduzindo ou eliminando a toxicidade (Kankonkar, 1974).

Souza et al. (2002) relataram que a irradiação de veneno de *B. jararacussu*, por ^{60}Co , reduz a ação deste veneno nas junções neuromusculares de camundongos, reduzindo efeitos de miotoxicidade e paralisia muscular.

Rogero, Nascimento (1995) relataram ausência de lesões cutâneas em animais inoculados com veneno irradiado de serpente da espécie *B. jararaca*.

Segundo Bailey, Wilce (2001), os venenos podem se tornar importantes fontes de agentes terapêuticos. Assim, Correa et al. (2002) e Silva et al. (2002a e 2002b) relataram atividades antitumorais de componentes do veneno botrópico e

Gonçalves et al. (2002) descreveram alterações, induzidas pelo veneno de *B. jararaca*, no crescimento do *Trypanosoma cruzi* e da *Leishmania spp.*

Fenard et al. (1999) observaram interferência da fosfolipase A2, obtida a partir de venenos de serpentes, na entrada de alguns vírus, como o HIV-1, em leucócitos.

3- OBJETIVOS

Este trabalho teve por objetivo geral estudar, comparativamente, os aspectos clínicos e laboratoriais de caprinos inoculados com veneno botrópico (*Bothrops jararaca*) nativo e irradiado com ^{60}Co .

Objetivos específicos:

1. Verificar, comparativamente, os sinais clínicos em caprinos submetidos à inoculação de veneno botrópico (*B. jararaca*) nativo ou irradiado em fonte de ^{60}Co .
2. Verificar, comparativamente, as alterações hematológicas em caprinos submetidos à inoculação de veneno botrópico (*B. jararaca*) nativo e irradiado em fonte de ^{60}Co .
3. Verificar, comparativamente, o perfil da bioquímica sérica em caprinos submetidos à inoculação de veneno botrópico (*B. jararaca*) nativo e irradiado em fonte de ^{60}Co , por mensurações séricas de uréia, creatinina, alanino aminotransferase, aspartato aminotransferase e creatina quinase.
4. Verificar, comparativamente, as alterações no tempo de coagulação sanguínea em caprinos submetidos à inoculação de veneno botrópico (*B. jararaca*) nativo e irradiado em fonte de ^{60}Co .
5. Verificar, comparativamente, as alterações na contagem de trombócitos em caprinos submetidos à inoculação de veneno botrópico (*B. jararaca*) nativo e irradiado em fonte de ^{60}Co .

6. Verificar, comparativamente, o nível sérico de imunoglobulinas totais de caprinos submetidos à inoculação de veneno botrópico (*B. jararaca*) nativo e irradiado em fonte de ^{60}Co .

4- MATERIAL E MÉTODO

4.1 Animais experimentais:

Para a realização do experimento, foram utilizados 12 caprinos provenientes da região de Miguelópolis, Estado de São Paulo, sendo dois machos e dez fêmeas, sem raça definida, com mais de um ano de idade, pesando entre 16 e 23 kg de peso vivo e em bom estado clínico geral, segundo parâmetros preconizados por Gay APUD Radostits et al. (2002). Quatro semanas antes do início do experimento, os animais receberam tratamento anti-helmíntico à base de ivermectina 1% (IVOME[®])¹, na dose única de 0,2 mg/kg de peso vivo (Roberson, 1992), e permaneceram isolados e em observação. Esses animais não possuíam histórico de qualquer tipo de vacinação e assim permaneceram.

4.2 Manutenção dos animais:

Os animais foram mantidos em baias coletivas (seis animais por baia) cobertas pertencentes ao Hospital Veterinário de Uberaba, em Uberaba, Estado de Minas Gerais, com área de 16 m², piso de cimento recoberto com cama de maravalha, trocada diariamente, e parede de alvenaria com pintura em tinta látex, iluminada naturalmente e por eletricidade, apenas no período noturno, sem solário, com água encanada *ad libitum*, fornecida em bebedouro de alvenaria, com reabastecimento por sistema de bóia, e alimentados com capim elefante triturado à vontade, proveniente de capineira da Fazenda das Faculdades Associadas de

1- IVOME[®] (50 mL) - Merck-Sharp-Dohm

Uberaba (FAZU), e cerca de 200g de ração concentrada própria para essa espécie animal, por animal por dia, (CAPRINOTECH[®])².

4.3 Obtenção do veneno:

O veneno (200 mg) foi colhido de serpentes da espécie *B. jararaca* pertencentes ao Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP), da Universidade Estadual Paulista (UNESP) de Botucatu. Coube ao CEVAP a colheita e a liofilização do veneno. Metade do veneno colhido (100 mg) foi conservado e outra metade foi utilizada no processo de irradiação.

4.4 Irradiação do veneno:

Metade da dose total do veneno foi diluída em solução salina (NaCl 150 mM, pH 3,0) e submetida à irradiação em fonte de ⁶⁰Co (2000 Gy com taxa de dose de 5,7 KGy/hora) e conservada sob temperatura de resfriamento, segundo Rogero, Nascimento (1995). Este procedimento coube ao Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares (IPEN).

4.5 Intoxicação dos animais:

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, denominados grupo inoculado com veneno nativo (GIVN) e grupo inoculado com veneno irradiado (GIVI) e submetidos aos protocolos experimentais que constam na tabela 1.

2- CAPRINOTECH[®] (25kg) – Purina

Tabela 1. Protocolo de intoxicação dos animais do grupo inoculado com veneno nativo (GIVN) e grupo inoculado com veneno irradiado (GIVI)

GRUPOS	PROTOCOLO DE INTOXICAÇÃO
GIVN (n=6)	Aplicação de 0,5 mg/kg (Araújo et al., 1963) de veneno nativo de serpente <i>B. jararaca</i> diluído a 2 mg/mL de solução fisiológica, por via intramuscular no músculo semitendinoso.
GIVI (n=6)	Aplicação de 0,5 mg/kg (Araújo et al., 1963) de veneno de serpente <i>B. jararaca</i> , irradiado em fonte de ^{60}Co , diluído a 2 mg/mL de solução fisiológica, por via intramuscular no músculo semitendinoso.

4.6 Momentos das coletas:

Amostras de sangue foram coletadas, por punção venopunção da jugular, em EDTA (sal de potássio do ácido etilenodiamino tetra-acético) para realização de hemograma e sem anticoagulante para as mensurações séricas, imediatamente antes da inoculação dos venenos e 24 horas, 48 horas, sete dias e 30 dias após a inoculação experimental.

4.7 Exames físicos dos animais:

Os animais foram examinados, imediatamente antes e diariamente após a inoculação dos venenos, segundo protocolo recomendado por Gay APUD Radostits et al. (2002). As lesões, nos locais das aplicações dos venenos, foram

avaliadas enquanto persistiram, quanto à presença ou não de edema, rubor, solução de continuidade, hemorragia e necrose, por inspeção direta, e calor e dor, por palpação. Para se avaliar a intensidade dessas alterações foram atribuídas notas de zero a quatro, sendo zero a ausência de lesão e quatro a lesão mais intensa.

4.8 Exames laboratoriais:

Foram realizados os seguintes exames:

- hemograma, em contador CELM CC530^{®3} para contagem de hemácias, mensuração da hemoglobina sérica e contagem total de leucócitos; microhematócrito, em centrífuga CENTRIMICRO^{®4} a 11.000 rotações por minuto durante cinco minutos; contagem diferencial de leucócitos, por contagem de 100 células em lâmina corada por Panótico rápido (Jain, 1993).

3- CELM CC530[®] - CELM

4- CENTRIMICRO[®] - FANEN

- bioquímicos séricos de uréia, por método enzimático ultravioleta em kit URÉIA LIQUIFORM^{®5} ; creatinina, por método colorimétrico de ponto final, em kit CREATININA LIQUIFORM^{®6} ; creatina quinase (CK), por método de cinética ultravioleta em kit CK NACI LIQUIFORM^{®7} ; aspartato aminotransferase (AST), por método de cinética ultravioleta em kit AST/GOT LIQUIFORM^{®8} ; alanino aminotransferase (ALT), por método de cinética ultravioleta em kit ALT/GPT LIQUIFORM^{®9} ; todos com leitura em espectrofotômetro BIO2000^{®10} semiautomático (Kaneko, 1997).
- tempo de coagulação, em minutos, por observação visual do sangue total em temperatura ambiente (Kaneko, 1997).
- contagem de plaquetas, por método indireto de Fônio (Pratt, 1997).
- mensuração de imunoglobulinas séricas totais por eletroforese, em aparelho CELM FEA 250^{®11} (Pratt, 1997).

5- URÉIA LIQUIFORM[®] - LABTEST

6- CREATININA LIQUIFORM[®] - LABTEST

7- CK NACI LIQUIFORM[®] - LABTEST

8- AST/GOT LIQUIFORM[®] - LABTEST

9- ALT/GPT LIQUIFORM[®] - LABTEST

10- BIO2000[®] - BIOPLUS

11- CELM FEA 250[®] - CELM

4.9 Análise dos resultados:

Os resultados obtidos foram anotados em fichas individuais (apêndices 1 e 2) e, posteriormente, tabulados e analisados, visando verificar se houve variação significativa no desenvolvimento dos sintomas clínicos e nos padrões laboratoriais, entre animais do mesmo grupo e entre os grupos GIVN (grupo inoculado com veneno nativo) e GIVI (grupo inoculado com veneno irradiado).

4.10 Procedimento estatístico:

Para comparação entre grupos, foi utilizada análise de variância; para um delineamento inteiramente casualizado com as comparações múltiplas foi empregado o método de Tuckey ao nível de 5% de significância (Zar, 1984).

5- RESULTADOS

5.1. TEMPERATURA RETAL, FREQUÊNCIA CARDÍACA, PULSO E FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA

Pôde-se observar, ao longo do experimento, que fatores ambientais, como estresse e temperatura ambiental, foram preponderantes nas variações observadas nas aferições da temperatura retal, frequência cardíaca, pulso e frequência respiratória, portanto, estes parâmetros não foram considerados.

5.2. EXAME CLÍNICO

Após a inoculação dos venenos, em ambos os grupos, observou-se o desenvolvimento de apatia e anorexia, que persistiu durante cerca de três dias nos animais pertencentes ao grupo GIVN e apenas 1 dia nos animais do grupo GIVI, além das alterações locais. Entretanto, percebeu-se que os animais pertencentes ao grupo inoculado com veneno nativo (GIVN) se mostraram mais apáticos e anoréticos que aqueles pertencentes ao grupo inoculado com veneno irradiado (GIVI), embora estes parâmetros não tenham sido mensurados.

5.3. ALTERAÇÕES LOCAIS

Os resultados das avaliações, das alterações locais observadas nos animais dos grupos GIVN e GIVI, são demonstrados nas tabelas 2, 3, 4 e 5; figuras 1, 2, 3 e 4 e quadro 1.

5.3.1. Presença de solução de continuidade, hemorragia e necrose

Em nenhum animal de ambos os grupos foi observada qualquer lesão, na superfície da pele no local da inoculação dos venenos, que pudesse ser

caracterizada como solução de continuidade, hemorragia ou necrose, portanto, estes parâmetros não foram considerados.

5.3.2. Presença de edema

A tabela 2 mostra, e a figura 1 ilustra, os dados obtidos da observação dos edemas inflamatórios locais nos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 2. Desenvolvimento de edema inflamatório local (notas de 0 a 4, sendo 0 a ausência de edema e 4 o edema mais intenso observado) nos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes da inoculação dos venenos botrópicos e de um a oito dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
GIVN	1	0	2	3	2	1	1	1	0	0
	2	0	3	3	2	1	0	0	0	0
	3	0	3	3	2	1	0	0	0	0
	5	0	2	2	3	2	0	0	0	0
	6	0	3	4	4	4	3	3	3	1
	10	0	3	4	2	1	0	0	0	0
	X	0	2,67	3,17	2,5	1,67	0,67	0,67	0,5	0,17
		A	A	B	B	B	A	A	A	A
GIVI	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	2	1	0	0	0	0	0	0
	8	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	9	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	11	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	12	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	X	0	1,17	0,67	0	0	0	0	0	0
		A	B	A	A	A	A	A	A	A

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

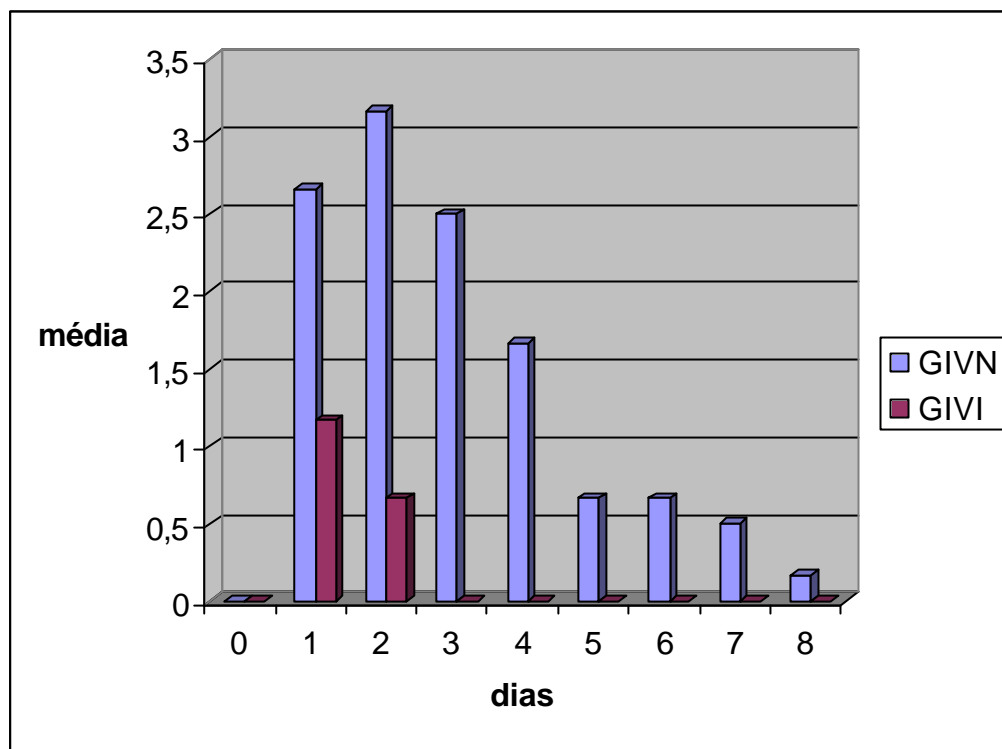


Figura 1. Médias, dos valores atribuídos à intensidade dos edemas locais desenvolvidos pelos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Pôde-se observar, considerando-se os valores das médias, que o edema inflamatório local instalou-se logo após as inoculações, sendo mais intenso nos animais do grupo GIVN. No segundo dia de experimento, os edemas continuavam a aumentar nos animais do grupo GIVN, porém, se reduziam nos animais do grupo GIVI. No terceiro dia, os edemas dos animais do grupo GIVN iniciaram suas reduções, e nos animais do grupo GIVI já haviam desaparecido. Os edemas locais dos animais do grupo GIVN continuaram a regredir lentamente e, no nono dia após as inoculações, desapareceram (tabela 2, figura 1 e quadro 1).

5.3.3. Presença de calor

A tabela 3 mostra, e a figura 2 ilustra, os dados obtidos da observação do desenvolvimento de calor decorrente do processo inflamatório local nos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 3. Desenvolvimento de calor inflamatório local (notas de 0 a 4, sendo 0 a ausência de calor e 4 o calor mais intenso observado) nos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes da inoculação dos venenos botrópicos, e de um a oito dias após esta inoculação, incluindo média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
GIVN	1	0	2	2	1	0	0	0	0	0	
	2	0	3	3	2	1	1	1	0	0	
	3	0	3	3	2	1	1	1	0	0	
	5	0	2	2	2	1	1	1	0	0	
	6	0	3	3	3	3	3	2	2	0	
	10	0	2	2	1	1	1	1	1	0	
	X	0	2,5	2,5	1,83	1,17	1,17	1	0,5	0	
		A	B	B	B	B	A	A	A		
GIVI	4	0	1	0	1	0	1	1	0	0	
	7	0	2	1	1	0	1	0	0	0	
	8	0	1	0	0	1	1	1	0	0	
	9	0	1	1	1	1	1	0	0	0	
	11	0	3	2	1	0	1	0	0	0	
	12	0	2	2	1	1	1	1	0	0	
	X	0	1,67	1	0,83	0,5	1	0,5	0	0	
		A	B	A	A	A	A	A	A		

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

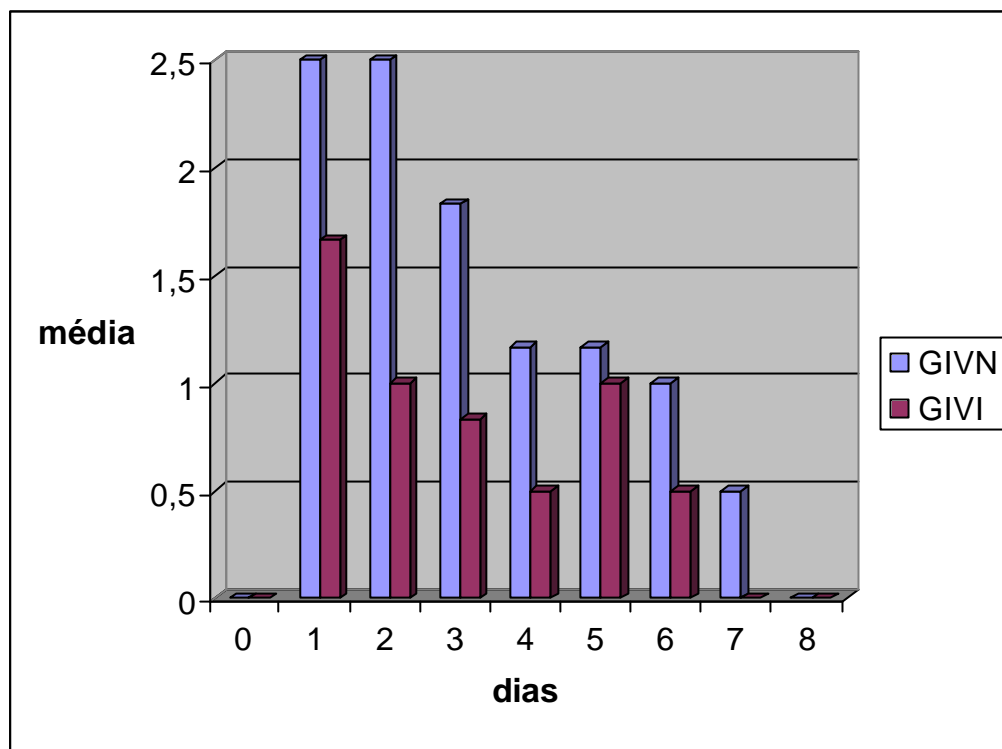


Figura 2. Médias, dos valores atribuídos à intensidade do calor local desenvolvido pelos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Considerando-se as médias, pôde-se observar que no primeiro dia após as inoculações dos venenos, o calor inflamatório já estava instalado em todos os animais de ambos os grupos, entretanto, com maior intensidade nos animais do grupo GIVN. No segundo dia, o calor local se manteve constante nos animais do grupo GIVN, e reduziu-se nos animais do grupo GIVI. A partir do terceiro dia, o calor local se mostrou em queda gradativa nos animais dos dois grupos, porém, sempre mais intenso nos animais do grupo GIVN. No sétimo dia, o calor havia desaparecido no animais do grupo GIVI e ainda estava presente nos animais do

grupo GIVN. No oitavo dia, o calor havia desaparecido em todos os animais dos dois grupos (tabela 3, figura 2 e quadro 1).

5.3.4. Presença de dor

A tabela 4 mostra, e a figura 3 ilustra, os dados obtidos da observação de dor decorrente da inflamação local nos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 4. Desenvolvimento de dor local (notas de 0 a 4, sendo 0 a ausência de dor e 4 a dor mais intensa observada) nos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes da inoculação dos venenos botrópicos, e de um a nove dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
GIVN	1	0	1	1	1	2	2	2	1	0	0
	2	0	1	1	0	1	2	1	1	0	0
	3	0	2	2	2	2	2	2	1	0	0
	5	0	1	2	2	2	2	1	1	0	0
	6	0	2	2	2	2	2	2	2	1	0
	10	0	3	2	2	2	2	1	0	0	0
	X	0	1,67	1,67	1,5	1,83	2	1,5	1	0,17	0
		A	B	B	B	B	B	B	A	A	
GIVI	4	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0
	7	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	8	0	2	1	1	1	2	1	0	0	0
	9	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	11	0	3	1	2	2	1	1	0	0	0
	12	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
	X	0	1,67	0,67	1	0,83	0,83	0,5	0	0	0
		A	B	A	A	A	A	A	A	A	

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

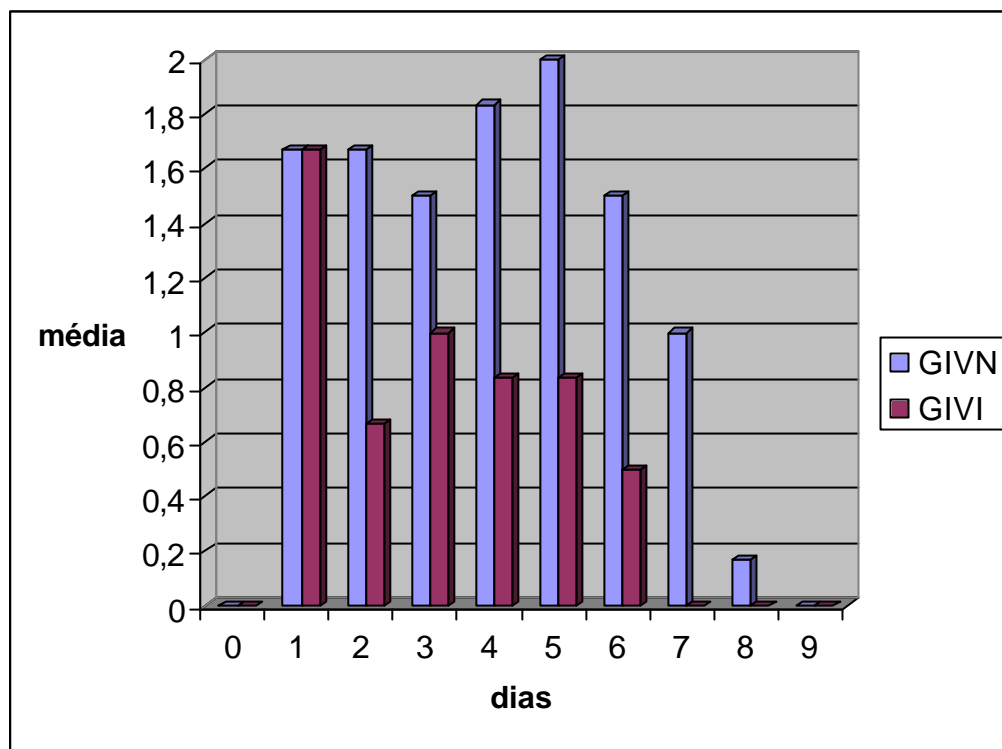


Figura 3. Médias, dos valores atribuídos à intensidade da dor local desenvolvida pelos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

A dor inflamatória local instalou-se imediatamente após a inoculação dos venenos, tendo sido demonstrada pela atitude antiálgica dos animais que mantinham o membro levantado do solo. Segundo as médias dos valores atribuídos à dor local, observou-se que um dia após a inoculação dos venenos, a dor local mostrou-se em semelhante intensidade nos animais dos dois grupos. Do segundo ao quinto dia, a dor local sofreu variações aleatórias nos animais de ambos os grupos, porém, sempre mais intensa nos animais do grupo GIVN. Do sexto ao oitavo dia, a dor local passou a reduzir-se nos animais dos dois grupos, entretanto, foi sempre mais intensa nos animais do grupo GIVN. A dor local

desapareceu a partir do sétimo dia, nos animais do grupo GIVI, e a partir do nono dia, nos animais do grupo GIVN (tabela 4, figura 3 e quadro 1).

5.3.5. Presença de rubor

A tabela 5 mostra, e a figura 4 ilustra, os dados obtidos da observação do rubor inflamatório local nos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 5. Desenvolvimento de rubor inflamatório local (notas de 0 a 4, sendo 0 a ausência de rubor e 4 o rubor mais intenso observado) nos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes da inoculação dos venenos botrópicos e de um a nove dias após esta inoculação, incluindo média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
GIVN	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
	2	0	2	2	1	1	1	1	0	0	0
	3	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
	5	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	6	0	1	1	2	1	2	2	1	1	0
	10	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0
	X	0	1,17	1,17	1,17	0,67	1	1	0,33	0,17	0
		A	B	B	B	A	B	B	A	A	A
GIVI	4	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0
	7	0	2	1	1	0	1	0	0	0	0
	8	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0
	9	0	2	1	1	1	1	0	0	0	0
	11	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	12	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
	X	0	1,33	0,83	1	0,67	0,83	0,33	0,17	0	0
		A	B	B	B	A	B	A	A	A	A

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

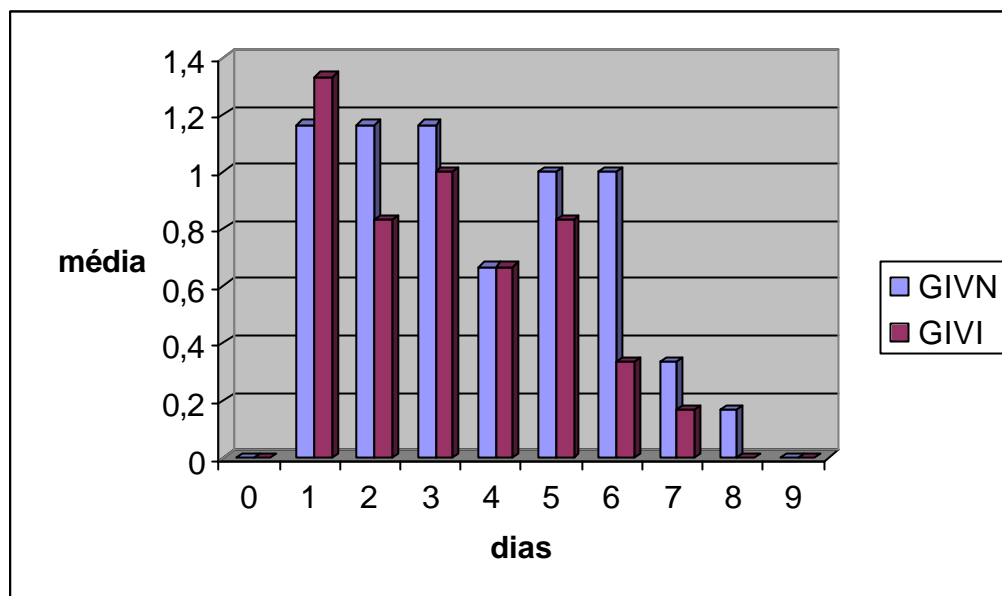
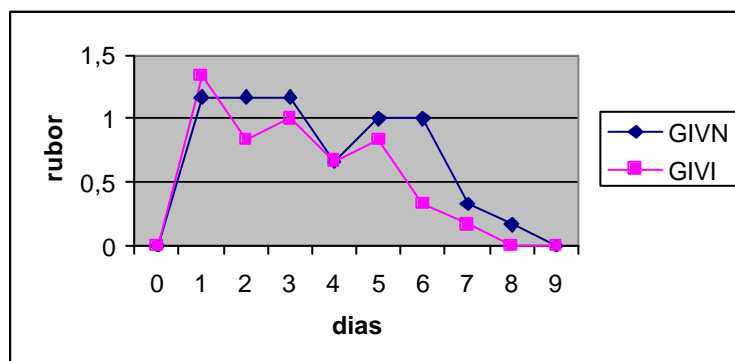
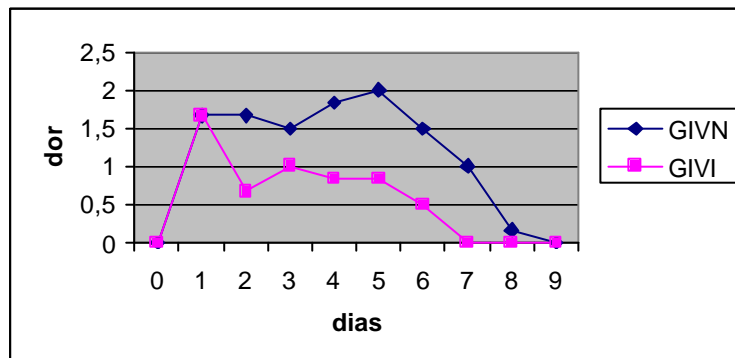
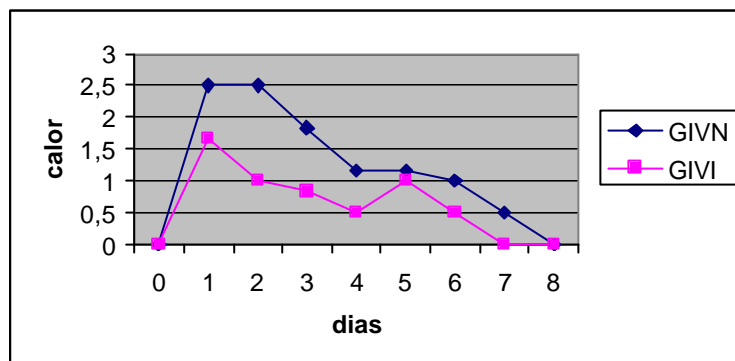
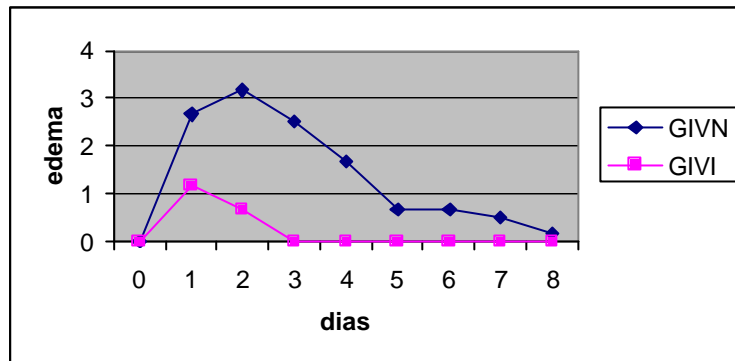


Figura 4. Médias, dos valores atribuídos à intensidade do rubor local desenvolvido pelos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Considerando-se as médias, dos valores atribuídos à intensidade do rubor inflamatório local, pôde-se verificar que este foi observado um dia após a inoculação dos venenos, sendo mais intenso nos animais do grupo GIVI. A partir do segundo até o quinto dia, o rubor local sofreu variações aleatórias, sendo sempre mais intenso nos animais do grupo GIVN, exceto no quarto dia, quando foi semelhante nos animais dos dois grupos. A partir do sexto dia, o rubor local passou a decair nos animais de ambos os grupos, sendo sempre menos intenso nos animais do grupo GIVI. O rubor local desapareceu, nos animais de grupo GIVI, no oitavo dia e, nos animais do grupo GIVN, no nono dia após a inoculação dos venenos (tabela 5, figura 4 e quadro 1).



Quadro 1. Gráficos, representativos das evoluções do edema, calor, dor e rubor locais nos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

5.4. ERITROGRAMA

Nos exames de eritrograma foram analisados parâmetros demonstrados nas tabelas 6, 7 e 8; figuras 5, 6 e 7 e quadro 2.

5.4.1. Contagem de hemácias

A tabela 6 mostra, e a figura 5 ilustra, os dados obtidos a partir da contagem de hemácias nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 6. Contagens de hemácias ($\times 10^6$) nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	22,15	22,1	16,96	14,33	22,52
	2	15	16,25	14,49	11,2	9,92
	3	15,25	10,5	10,48	11,07	15,65
	5	13,85	19,15	14,85	13,01	13,88
	6	14,25	12,2	10,93	13,68	18,88
	10	11,35	21,1	15,65	11,44	21,45
	X	13,12	14,61	12,19	11,67	18,9
		A	A	A	A	B
GIVI	4	14,25	13	11,78	13,39	12,04
	7	14,35	15,3	15,36	17,9	18,6
	8	17,25	18,05	17	17,29	19,39
	9	18,55	16,15	12,6	13,6	22,52
	11	16,1	11,45	15,93	12,64	18,5
	12	22,05	20,65	14,15	22,26	26,45
	X	17,1	15,77	14,47	14,87	19,58
		B	A	A	A	B

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

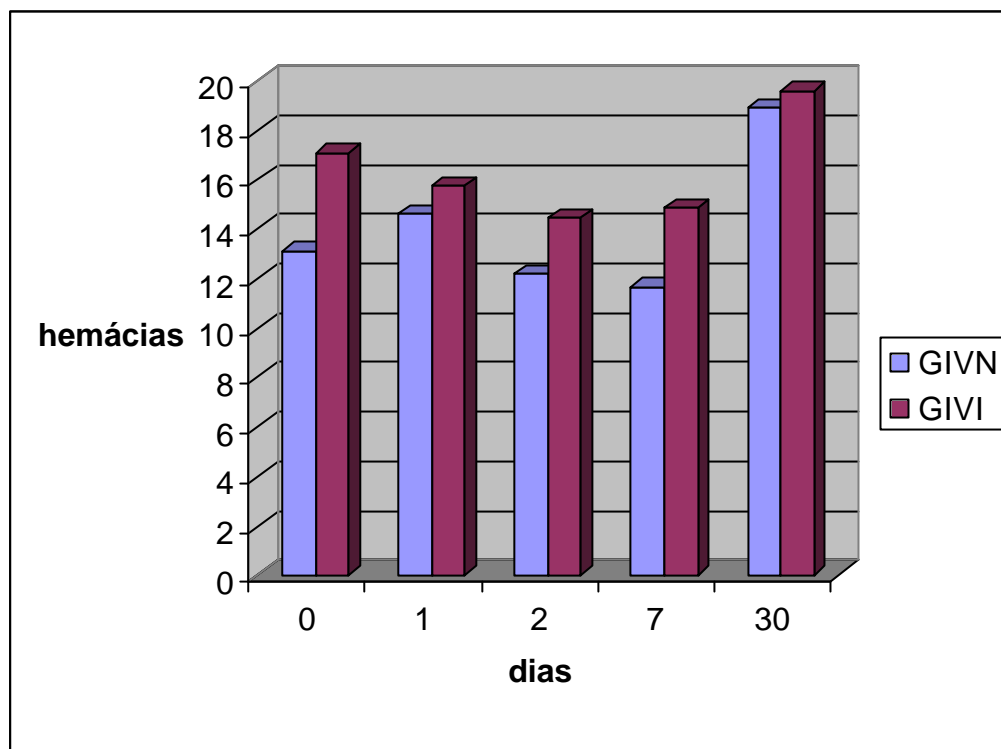


Figura 5. Médias, dos valores de contagem de hemácias ($\times 10^6$) nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Os valores médios das contagens de hemácias sofreram quedas proporcionais e gradativas em ambos os grupos no primeiro e segundo dia após a inoculação dos venenos. No sétimo dia, a contagem de hemácias continuava a decair, nos animais do grupo GIVN, e passou a elevar-se nos animais do grupo GIVI. No trigésimo dia, a contagem de hemácias havia se elevado, estando com valores semelhantes entre os animais dos dois grupos e superiores ao observado antes da inoculação dos venenos (tabela 6, figura 5 e quadro 2).

5.4.2 Volume globular

A tabela 7 mostra, e a figura 6 ilustra, os valores de volume globular obtidos nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 7. Valores de volume globular (%) mensurados nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS				
		(em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	33	32	22	24	32
	2	23	24	22	17	20
	3	32	23	17	21	33
	5	35	33	30	25	32
	6	35	34	28	25	33
	10	29	32	24	22	36
	X	31,17	29,67	23,83	22,33	31
		A	A	B	B	A
GIVI	4	33	32	31	22	28
	7	28	29	28	26	33
	8	28	28	28	28	34
	9	29	27	26	27	35
	11	25	23	25	23	29
	12	35	35	29	34	47
	X	29,67	29	27,83	26,67	34,33
		A	A	A	A	A

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

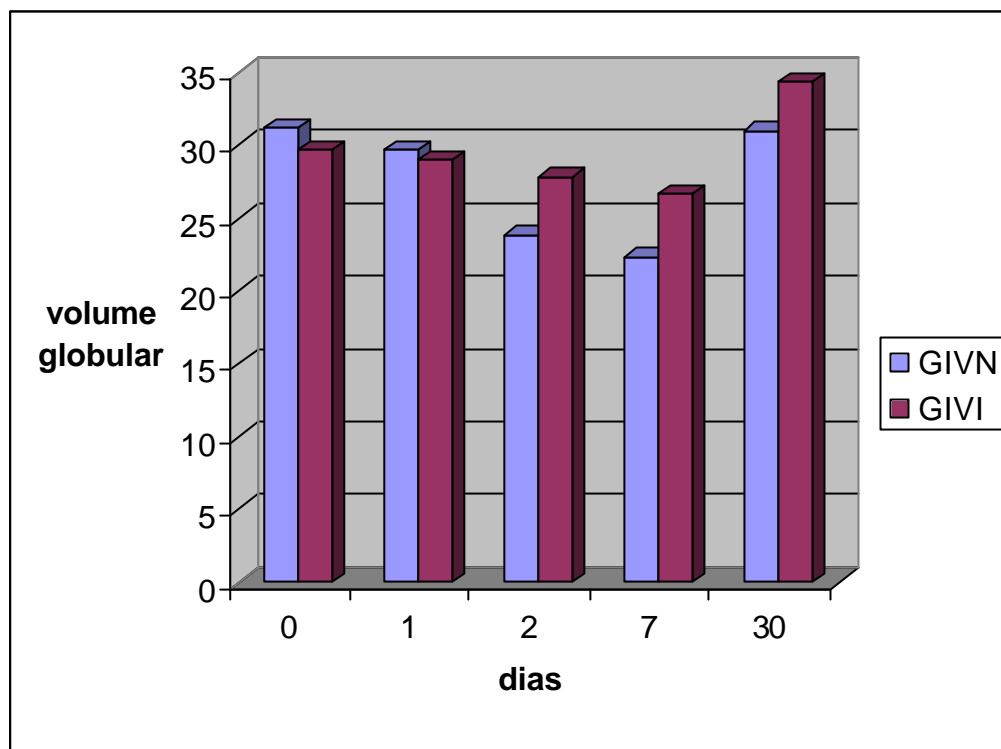


Figura 6. Médias, dos valores de volume globular (%) nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Os valores médios de volume globular decaíram proporcionalmente, entre os grupos, no primeiro dia após inoculação dos venenos. Do segundo ao sétimo dia, os valores continuaram a decair em ambos os grupos, porém, esta queda foi mais intensa nos animais do grupo GIVN. No trigésimo dia, os valores de volume globular aumentaram em ambos os grupos, sendo semelhante ao observado antes da inoculação dos venenos, nos animais do grupo GIVN, e superior nos animais do grupo GIVI (tabela 7, figura 6 e quadro 2).

5.4.3. Nível sérico de hemoglobina

A tabela 8 mostra, e a figura 7 ilustra, os níveis séricos de hemoglobina obtidos nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 8. Níveis séricos de hemoglobina (g/dL) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	10,1	9,8	8,3	7,8	10
	2	7,7	8,1	6,1	6,2	6
	3	8,8	7	5,3	6,7	9,1
	5	9,8	10,6	9,6	8,3	9,7
	6	8,9	10,5	8,9	8,3	10,3
	10	9,5	10,8	7,8	7,8	11,9
	X	9,13	9,47	7,67	7,52	9,5
GIVI	4	7	6,9	6,5	7,2	6,1
	7	9,2	9,4	8,7	9,4	11,1
	8	9,5	9	8,3	8,9	12,1
	9	9,1	8,6	7,9	8,8	12,9
	11	8,3	7,8	7,6	7,7	7,9
	12	11,1	10,9	10,1	11,4	14,2
	X	9,03	8,77	8,18	8,9	10,72

X = média aritmética

Médias não diferem significativamente ($p > 0,05$).

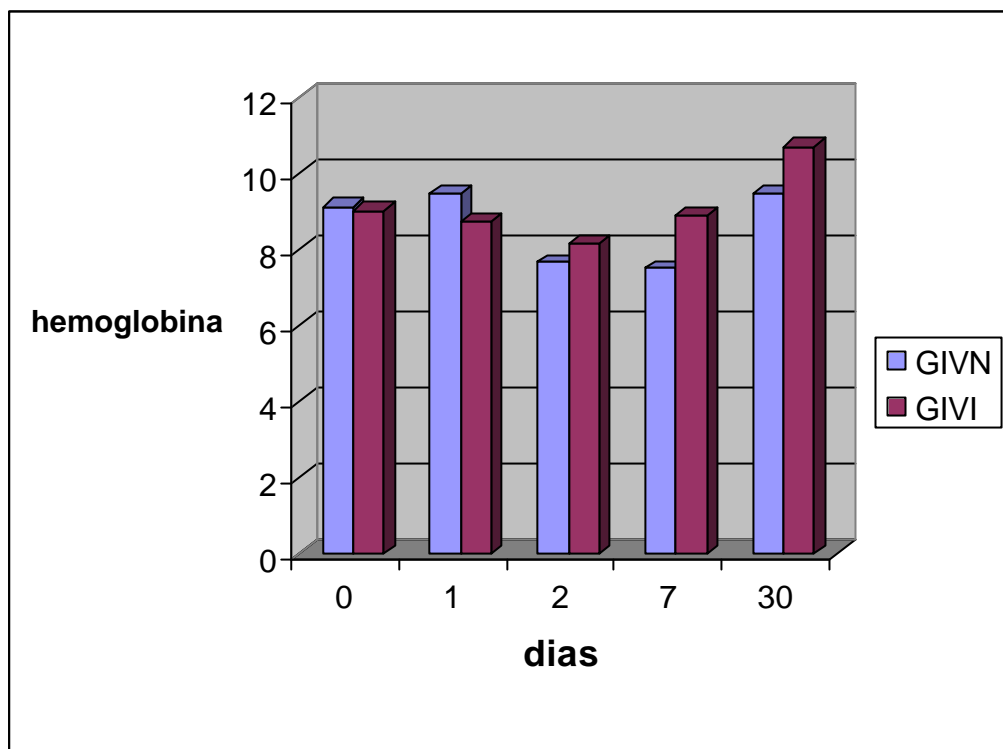
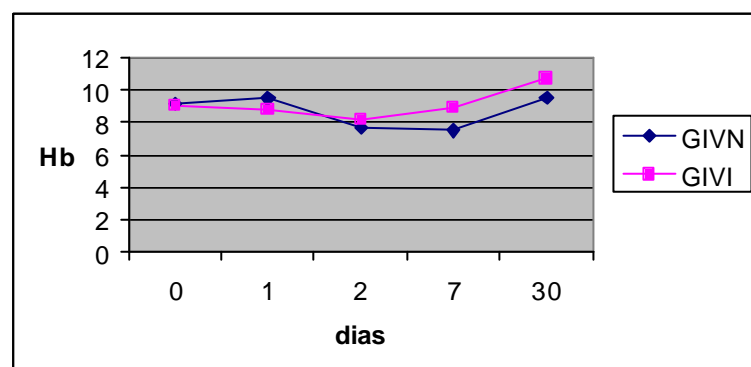
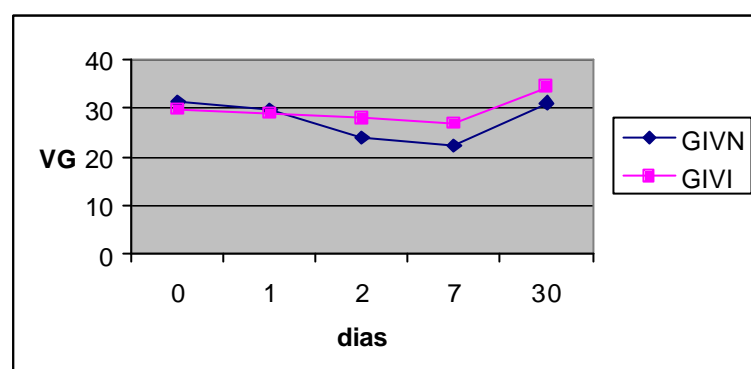
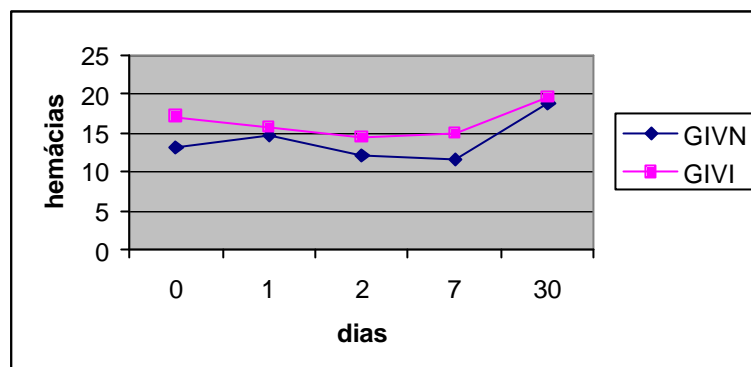


Figura 7. Médias, dos valores de hemoglobina (g/dL) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

A tabela 8, a figura 7 e o quadro 2 demonstram que os valores médios dos teores séricos de hemoglobina sofreram variações aleatórias ao longo do experimento, porém, no trigésimo dia, os valores foram superiores aos observados antes da inoculação dos venenos em ambos os grupos, entretanto, estas variações não foram significativas em nenhum momento ($p > 0,05$).



Quadro 2. Gráficos representativos das evoluções das contagens de hemácias (células x 10⁶/mm³), mensurações de volume globular (%) e hemoglobina (g/dL) em sangue total dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

5.5. LEUCOGRAMA

Nos exames de leucograma foram analisados parâmetros demonstrados nas tabelas 9 a 14, figuras 8 a 13 e quadro 3.

5.5.1. Contagem de leucócitos

A tabela 9 mostra, e a figura 8 ilustra, as contagens de leucócitos obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 9. Contagens de leucócitos (células/mm³) obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	9250	17600	13800	9700	4950
	2	13650	15400	14000	11650	6700
	3	12000	15250	11000	9900	8500
	5	36500	18200	16800	12650	7900
	6	15700	27600	20800	12350	15050
	10	11000	11400	15600	9400	6450
	X	16350	17575	15333,33	10941,67	8258,33
		A	A	A	B	B
GIVI	4	20650	25400	16200	15250	13250
	7	5600	4400	10600	9200	4000
	8	8600	4700	9800	9150	5150
	9	10050	15400	13600	12000	7950
	11	9000	15200	11000	8550	7950
	12	14200	24200	21000	14650	12050
	X	11350	14883,33	13700	11466,67	8391,67
		B	A	A	B	B

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

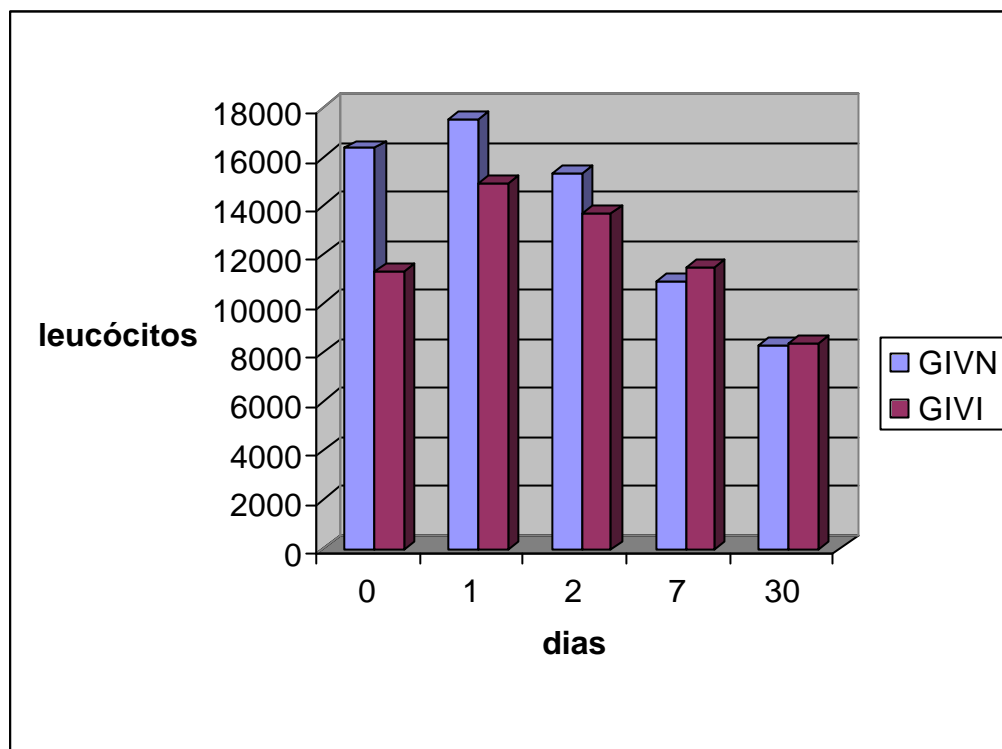


Figura 8. Médias, dos valores de contagem de leucócitos (células /mm³) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Os valores médios de contagem total de leucócitos se elevaram um dia após a inoculação dos venenos, sendo que esta elevação foi mais intensa nos animais do grupo GIVI. A partir do segundo dia, os valores passaram a decair gradativamente em ambos os grupos, porém, esta queda foi mais intensa nos animais do grupo GIVN. No trigésimo dia, os valores de contagem total de leucócitos estavam semelhantes, entre os animais do dois grupos, e inferiores ao observado antes da inoculação dos venenos (tabela 9, figura 8 e quadro 3).

5.5.2. Contagem de metamielócitos e basófilos

As contagens de metamielócitos e basófilos foram sempre iguais a zero, para todos os animais de ambos os grupos.

5.5.3. Contagem de bastonetes

A tabela 10 mostra, e a figura 9 ilustra, as contagens de bastonetes obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 10. Contagens de bastonetes (células/mm³) obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	0	0	0	0	99
	2	0	0	0	0	67
	3	0	152,5	0	0	170
	5	0	182	0	0	158
	6	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	64,5
	X	0	55,75	0	0	93,08
		A	B	A	A	B
GIVI	4	0	0	0	0	132,5
	7	0	132	0	0	40
	8	0	0	0	0	103
	9	0	308	0	0	79,5
	11	0	152	0	0	159
	12	0	726	0	0	120,5
	X	0	219,67	0	0	105,75
		A	C	A	A	B

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

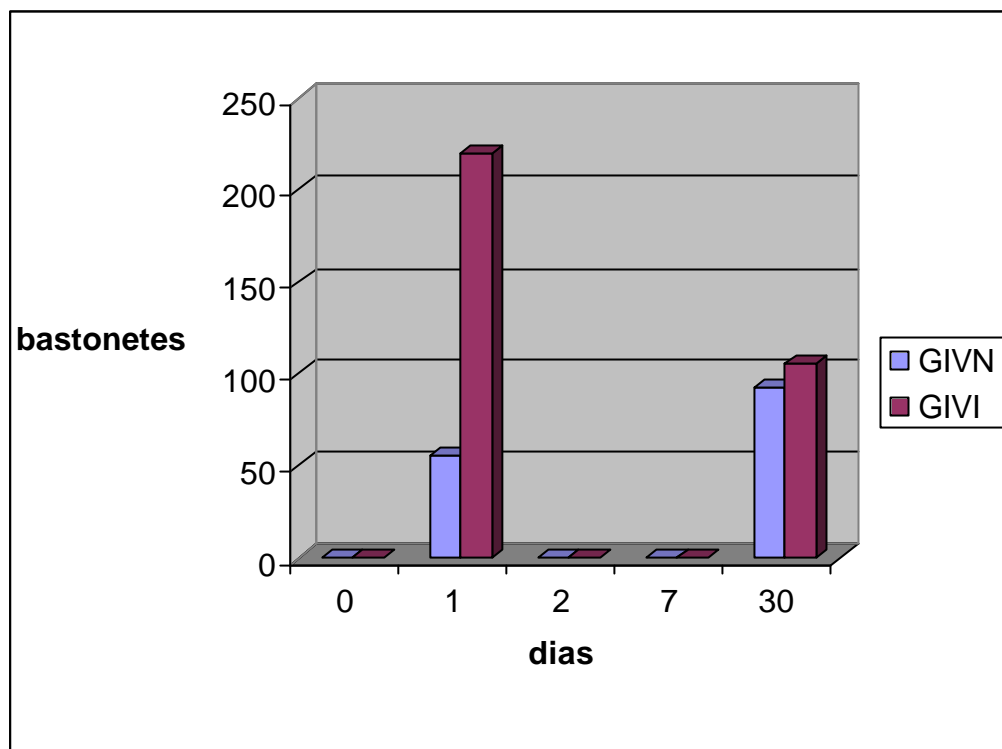


Figura 9. Médias, dos valores de contagem de bastonetes (células /mm³) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Os bastonetes não estavam presentes, nas contagens diferenciais de leucócitos, antes da inoculação dos venenos, porém, no primeiro dia após as inoculações, estavam presentes nos leucogramas dos animais de ambos os grupos e mais intensamente nos animais do grupo GIVI. Essas células não foram encontradas nos exames realizados no segundo e sétimo dias, entretanto, no trigésimo dia, estavam presentes em valores médios semelhantes nos leucogramas dos animais dos dois grupos (tabela 10, figura 9 e quadro 3).

5.5.4. Contagem de neutrófilos

A tabela 11 mostra, e a figura 10 ilustra, as contagens de neutrófilos obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 11. Contagens de neutrófilos (células /mm³) obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS				
		(em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	3607,5	14784	4968	3298	2227,5
	2	6415,5	9240	7140	3262	3216
	3	5520	12505	5280	4851	4505
	5	17155	12922	12264	6451,5	3555
	6	6594	17388	16432	4569,5	6170,5
	10	7260	8664	9672	4700	4063,5
	X	7758,67	12583,83	9292,67	4522	3956,25
			A	B	B	A
GIVI	4	10531,5	18542	8100	7015	6492,5
	7	2632	3256	4664	3220	2320
	8	3956	2585	3724	4209	2678
	9	4321,5	9086	3808	6360	4452
	11	3060	10792	4730	4104	4531,5
	12	4402	18634	11550	5567	5904,5
	X	4817,17	10482,5	6096	5079,17	4396,42
			A	B	A	A

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

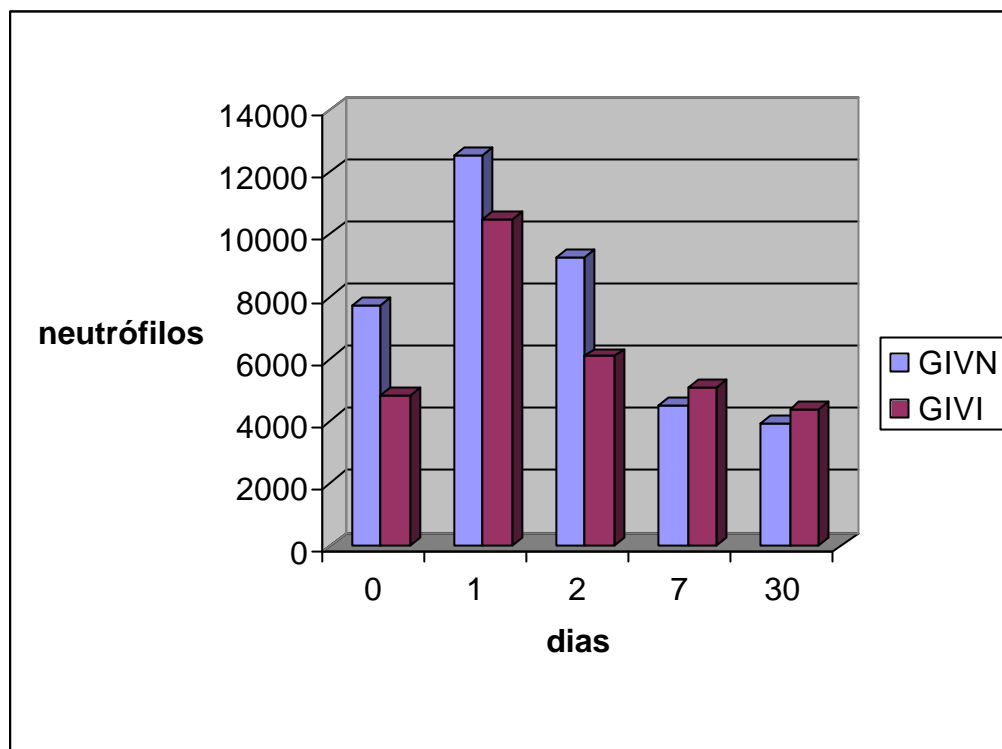


Figura 10. Médias, dos valores de contagem de neutrófilos (células /mm³) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Os valores médios de contagem diferencial de neutrófilos elevaram-se, proporcionalmente entre os grupos, um dia após a inoculação dos venenos. A partir do segundo dia, passaram a decair e estavam em valores semelhantes entre os dois grupos no sétimo dia, mantendo-se assim até o trigésimo dia (tabela 11, figura 10 e quadro 3).

5.5.5. Contagem de linfócitos

A tabela 12 mostra, e a figura 11 ilustra, as contagens de linfócitos obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 12. Contagens de linfócitos (células /mm³) obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS				
		(em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	5365	2288	8556	6305	2376
	2	7098	5852	6720	8388	3149
	3	6360	2440	5610	5049	3230
	5	16060	4732	4032	5566	3950
	6	8949	9936	3952	7657	8127
	10	3410	2736	5304	4136	1806
	X	7873,67	4664	5695,67	6183,5	3773
		A	B	A	A	B
GIVI	4	9499	6096	8100	7930	5830
	7	2744	1012	5830	5888	1520
	8	3870	1927	6076	4666,5	2111,5
	9	5226	5698	9656	5520	3100,5
	11	5490	3952	5940	4275	3021
	12	9656	4114	8190	8057,5	5422,5
	X	6080,83	3799,83	7298,67	6056,17	3500,92
		A	B	A	A	B

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

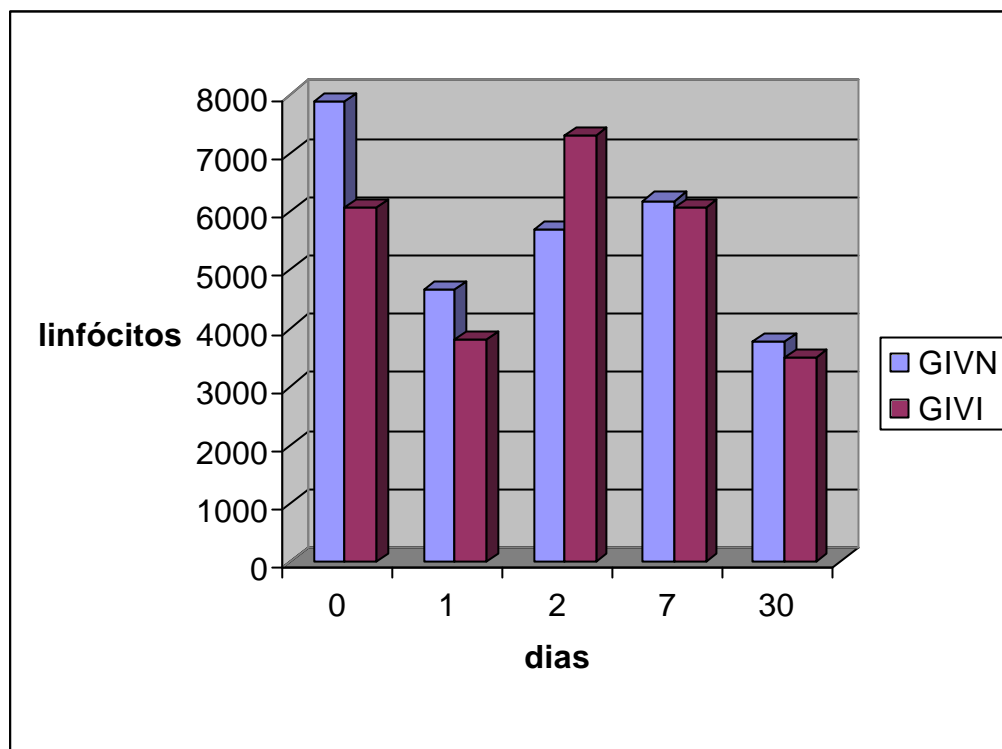


Figura 11. Médias, dos valores de contagem de linfócitos (células /mm³) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Um dia após a inoculação dos venenos, os valores médios das contagens diferenciais de linfócitos decaíram, com queda mais intensa nos animais do grupo GIVN. No segundo dia, as contagens se elevaram, com elevação mais intensa nos animais do grupo GIVI. No sétimo dia, as contagens estavam semelhantes entre os animais dos dois grupos. No trigésimo dia, as contagens haviam decaído e se mostraram semelhantes entre os dois grupos e inferiores ao observado antes da inoculação dos venenos (tabela 12, figura11 e quadro 3).

5.5.6. Contagem de monócitos

A tabela 13 mostra, e a figura 12 ilustra, as contagens de monócitos obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 13. Contagens de monócitos (células /mm³) obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	92,5	528	276	0	198
	2	136,5	308	140	0	268
	3	0	152,5	110	0	595
	5	365	364	504	506	237
	6	0	276	208	0	451,5
	10	110	0	312	376	322,5
	X	117,33	271,42	258,33	147	345,33
		A	B	B	A	B
GIVI	4	619,5	762	0	152,5	530
	7	56	0	0	92	120
	8	0	94	0	91,5	206
	9	0	154	136	0	238,5
	11	90	304	330	85,5	238,5
	12	0	484	840	879	482
	X	127,58	299,67	217,67	216,75	302,5
		A	B	B	B	B

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

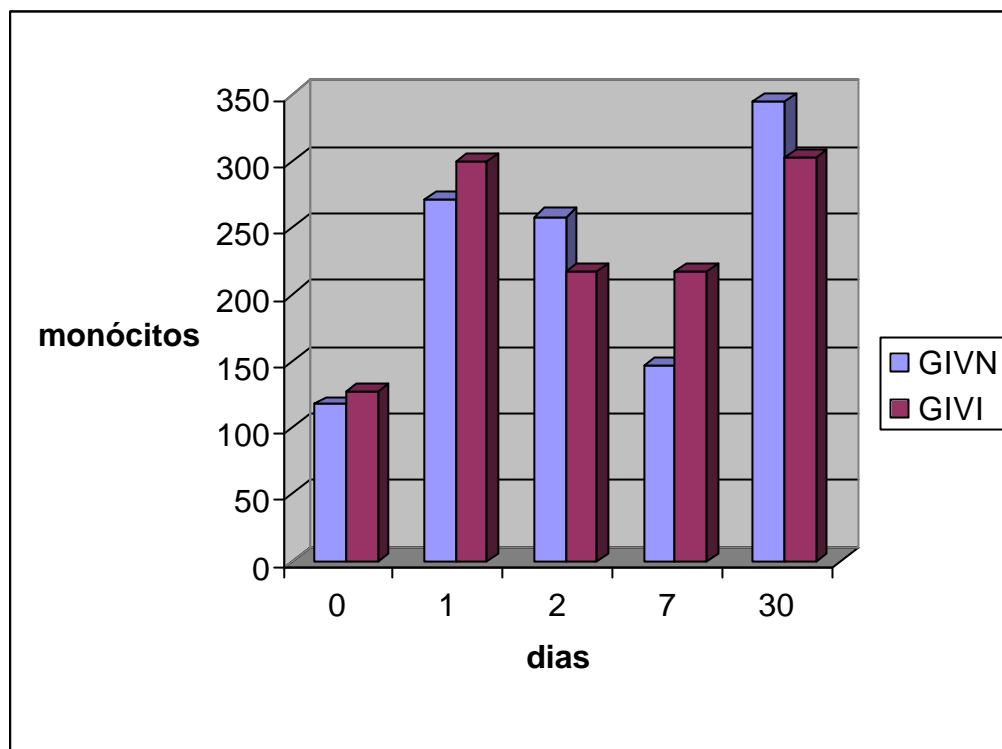


Figura 12. Médias, dos valores de contagem de monócitos (células /mm³) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Os valores médios de contagem diferencial de monócitos elevaram-se um dia após a inoculação dos venenos nos dois grupos, passando a decair após o segundo dia. No trigésimo dia, os valores elevaram-se em ambos os grupos, com elevação mais intensa nos animais do grupo GIVN, sendo que, em ambos os grupos, os valores eram superiores ao observado antes da inoculação dos venenos (tabela 13, figura 12 e quadro 3).

5.5.7. Contagem de eosinófilos

A tabela 14 mostra, e a figura 13 ilustra, as contagens de eosinófilos obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 14. Contagens de eosinófilos (células /mm³) obtidas nos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	185	0	0	97	49,5
	2	0	0	0	0	0
	3	120	0	0	0	0
	5	2920	0	0	126,5	0
	6	157	0	208	123,5	301
	10	220	0	312	188	193,5
	X	600,33	0	86,67	89,17	90,67
		A	C	C	C	C
GIVI	4	0	0	0	152,5	265
	7	168	0	106	0	0
	8	774	94	0	183	51,5
	9	502,5	154	0	120	79,5
	11	360	0	0	85,5	0
	12	142	242	420	146,5	120,5
	X	324,42	81,67	87,67	114,58	86,08
		B	C	C	C	C

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p>0,05$).

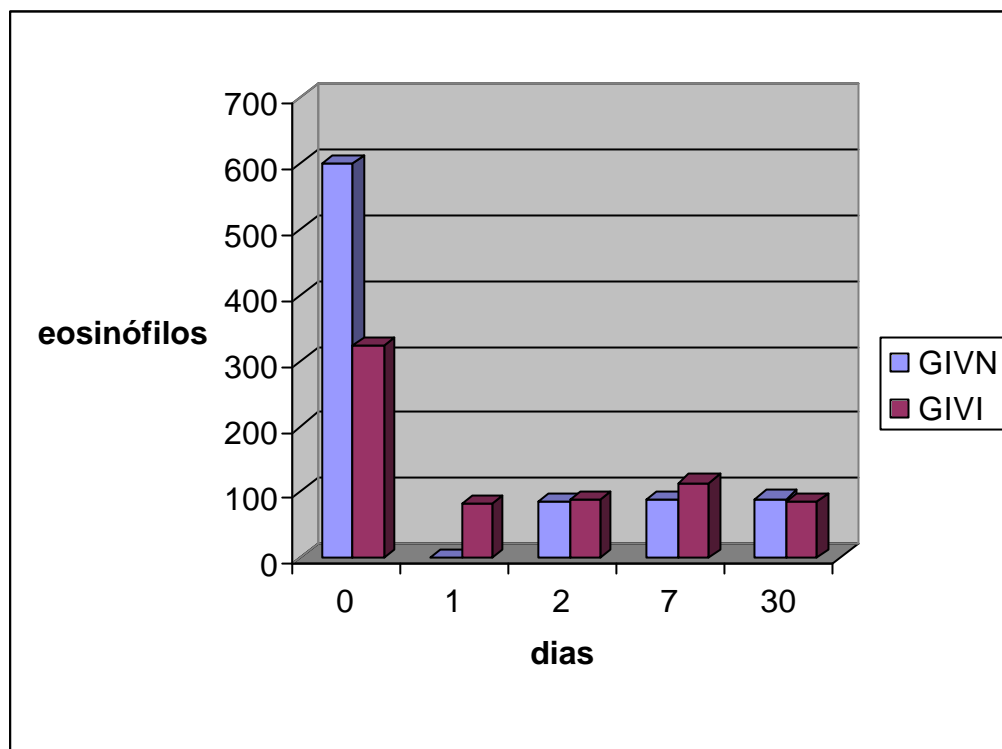
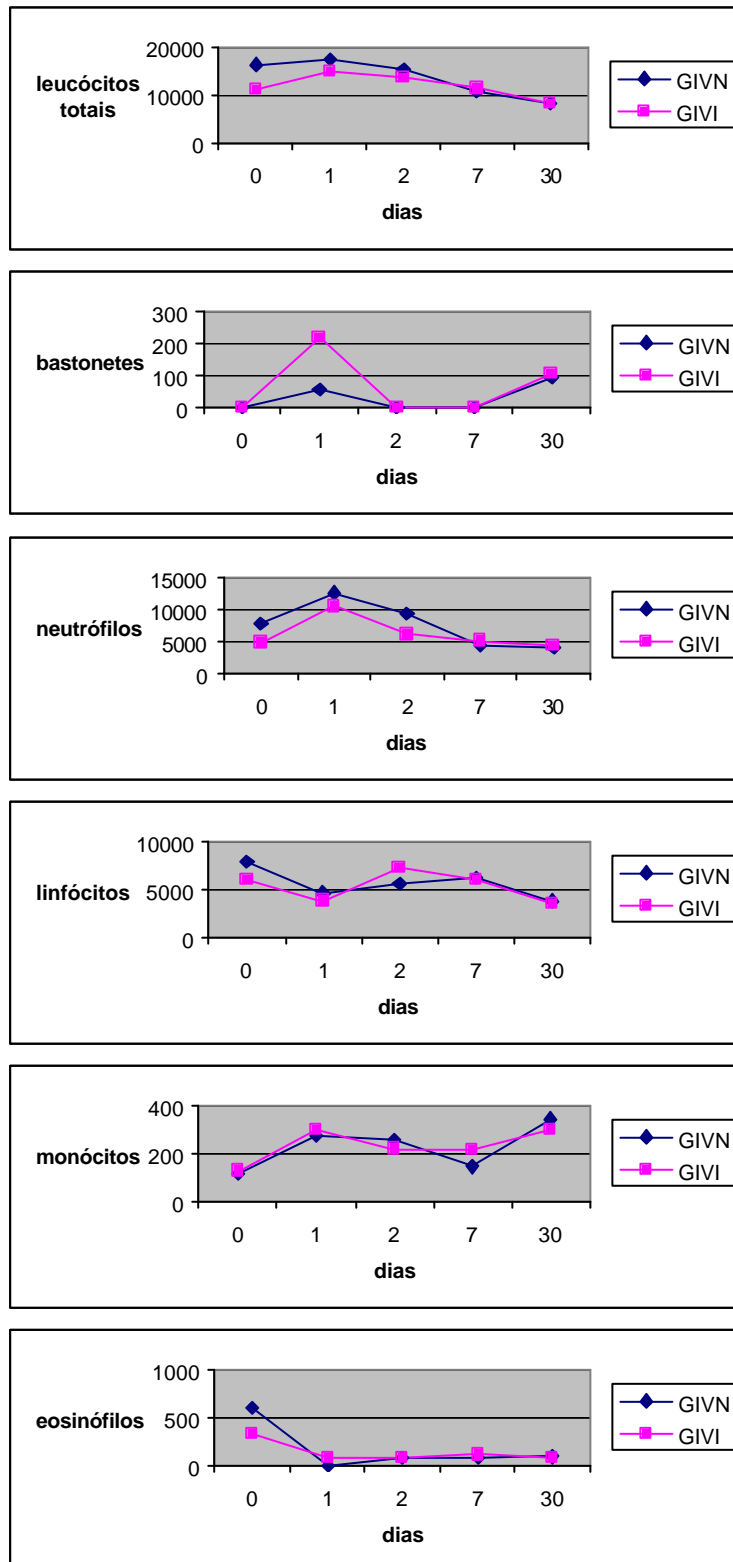


Figura 13. Médias, dos valores de contagem de eosinófilos (células /mm³) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Os valores médios das contagens diferenciais de eosinófilos decaíram, em ambos os grupos, após a inoculação dos venenos, e assim se mantiveram até o trigésimo dia (tabela 12, figura 13 e quadro 3).



Quadro 3. Gráficos representativos da evolução das contagens totais e diferenciais de leucócitos (células/mm³) em sangue total dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

5.6. PERFIL DE HEMOSTASIA

Alterações no perfil de hemostasia são demonstradas nas tabelas 15 e 16, figuras 14 e 15 e quadro 4.

5.6.1. tempo de coagulação

A tabela 15 mostra, e a figura 14 e o quadro 4 ilustram, os dados de tempo de coagulação obtidos em sangue total dos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 15. Tempos de coagulação, em minutos, observados em sangue total, dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	3	60	27	8	60
	2	4	32	60	15	17
	3	2	60	60	12	44
	5	3	60	60	17	35
	6	2	60	21	12	31
	10	3	60	60	12	40
	X	2,83	55,33	48	12,66	37,83
		A	B	B	A	B
GIVI	4	2	13	14	10	59
	7	2	17	14	5	41
	8	4	9	19	15	48
	9	3	12	18	12	50
	11	6	17	8	14	41
	12	2	6	9	11	26
	X	3,17	12,33	13,67	11,17	44,17
		A	A	A	A	B

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

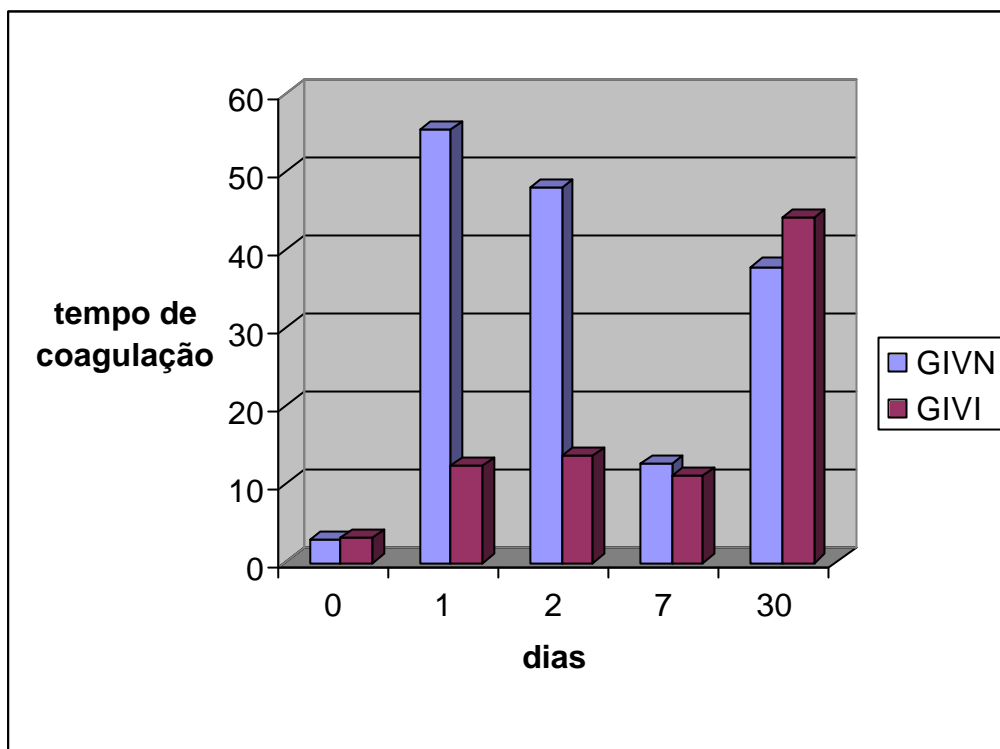


Figura 14. Médias, dos valores de tempo de coagulação (min), do sangue total dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Considerando-se valores médios, o tempo de coagulação do sangue total elevou-se, em ambos os grupos, um dia após a inoculação dos venenos, entretanto, esta elevação foi mais intensa nos animais do grupo GIVN. No segundo dia, o tempo de coagulação manteve-se semelhante ao observado no primeiro dia para os animais do grupo GIVI, e passaram a decair para os animais do grupo GIVN. No sétimo dia, os tempos de coagulação estavam semelhantes entre os dois grupos e em relação ao observado para os animais do grupo GIVI no segundo dia. No trigésimo dia, o tempo de coagulação elevou-se nos animais de ambos os grupos (tabela 15, figura 14 e quadro 4).

5.6.2. contagem de plaquetas

A tabela 16 mostra, e a figura 15 e o quadro 4 ilustram, as contagens de plaquetas executadas em sangue total dos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 16. Contagens de plaquetas (unidades /mm³) executadas em sangue total dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos, um, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS		
		(em dias após a inoculação dos venenos)		
		1	7	30
GIVN	1	959830	852630	371580
	2	780000	907000	282720
	3	594750	1140000	453850
	5	962575	870350	430280
	6	805125	961000	291400
	10	298180	729300	525525
	X	733410	910046,7	392559,2
		A	A	A
GIVI	4	855000	783300	638120
	7	308525	1640000	567300
	8	448500	1770500	475055
	9	255000	793300	529220
	11	225400	717320	333000
	12	595350	845880	462875
	X	447962,5	1091717	500928,3
		B	A	B

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

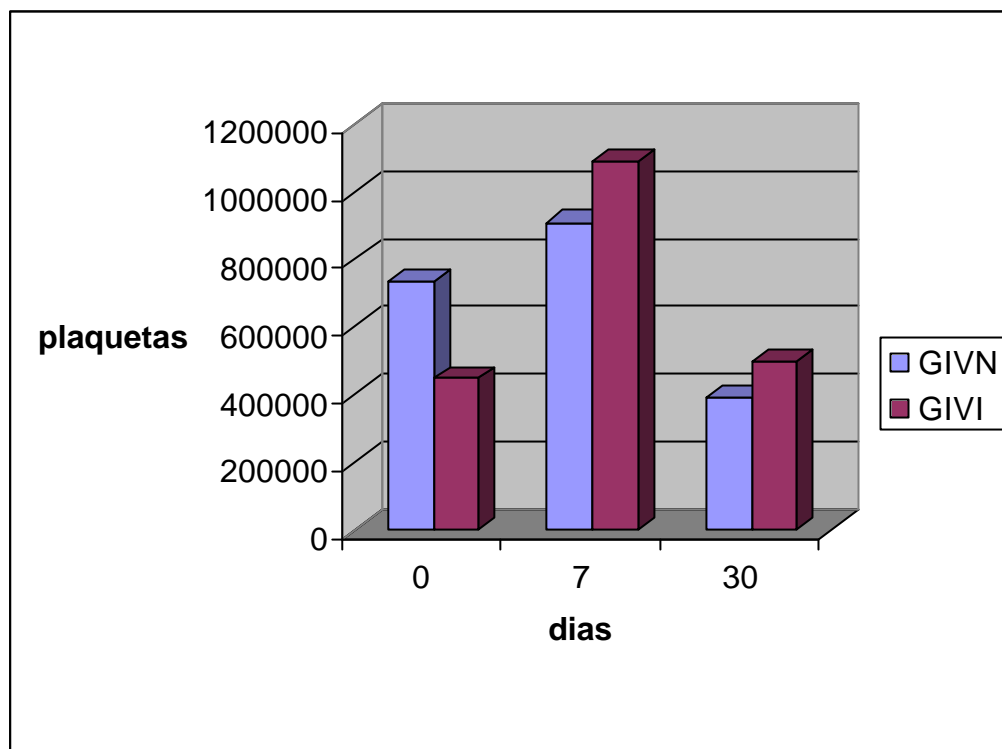
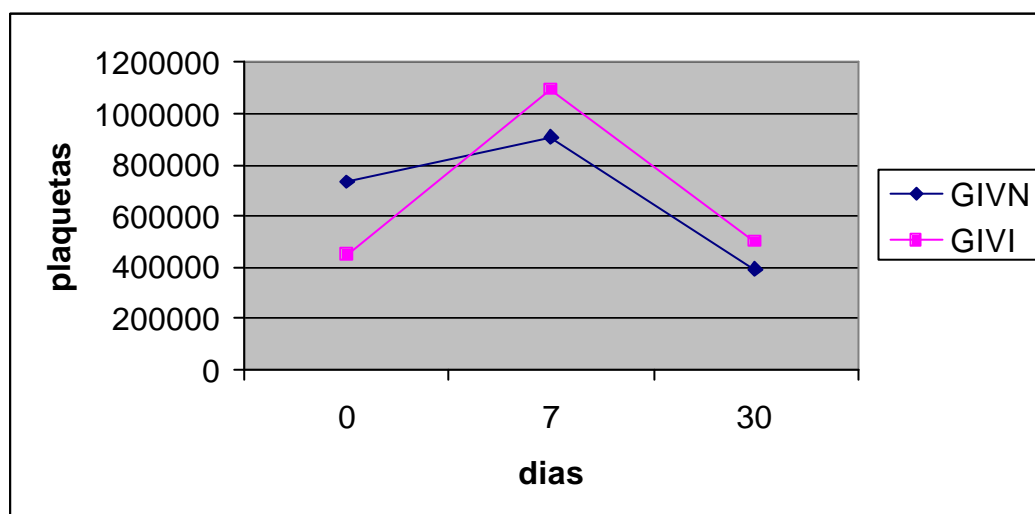
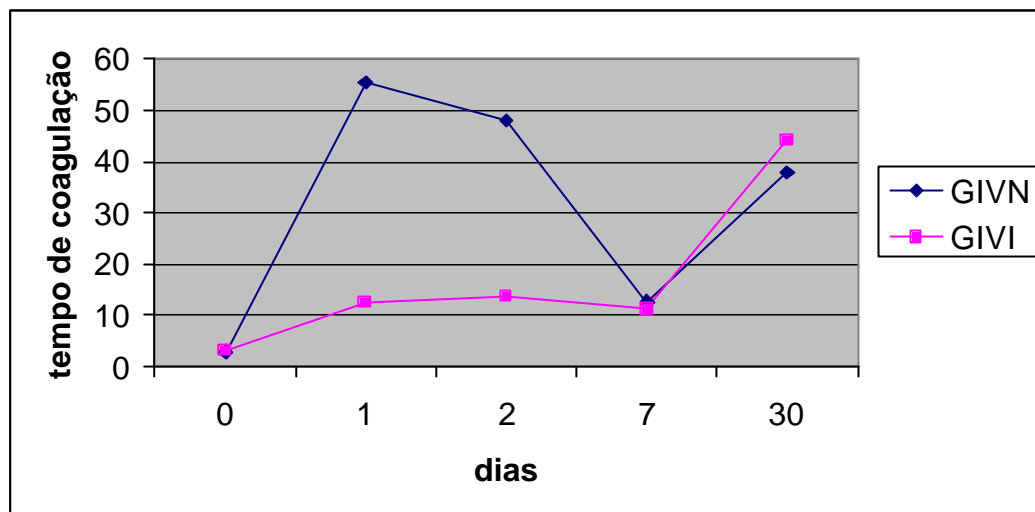


Figura 15. Médias, dos valores de contagem de plaquetas (unidades/mm³) obtidos a partir dos hemogramas dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

As contagens de plaquetas não foram possíveis no primeiro e segundo dia, após a inoculação dos venenos, em decorrência de agregações plaquetárias. No sétimo dia, os valores médios elevaram-se em ambos os grupos, com elevação mais intensa nos animais do grupo GIVI. No trigésimo dia, as contagens decaíram a valores semelhantes ao observado antes da inoculação, sendo semelhantes entre os animais dos dois grupos (tabela 16, figura 15 e quadro 4).



Quadro 4. Gráficos, representativos das evoluções das contagem de plaquetas (unidades/mm³) e mensurações do tempo de coagulação (minutos), em sangue total dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

5.7. PARÂMETROS DE BIOQUÍMICA SÉRICA

Os resultados obtidos com a análise dos parâmetros de bioquímica sérica são demonstrados nas tabelas 17 a 21, figuras 16 a 20 e quadro 5.

5.7.1. Nível sérico de uréia

A tabela 17 mostra, e a figura 16 ilustra, os dados obtidos da mensuração sérica de uréia nos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 17. Níveis séricos de uréia (mg/dL) dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	39	86	42	15	44
	2	23	48	23	11	35
	3	36	73	49	22	43
	5	37	103	94	23	47
	6	46	83	58	23	39
	10	39	40	49	20	36
	X	36,67	72,17	52,5	19	40,67
		A	B	A	A	A
GIVI	4	40	52	37	15	47
	7	27	57	28	12	49
	8	37	37	28	16	42
	9	38	50	34	17	28
	11	43	35	43	28	38
	12	60	33	35	13	47
	X	40,83	44	34,17	16,83	41,83
		A	A	A	A	A

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

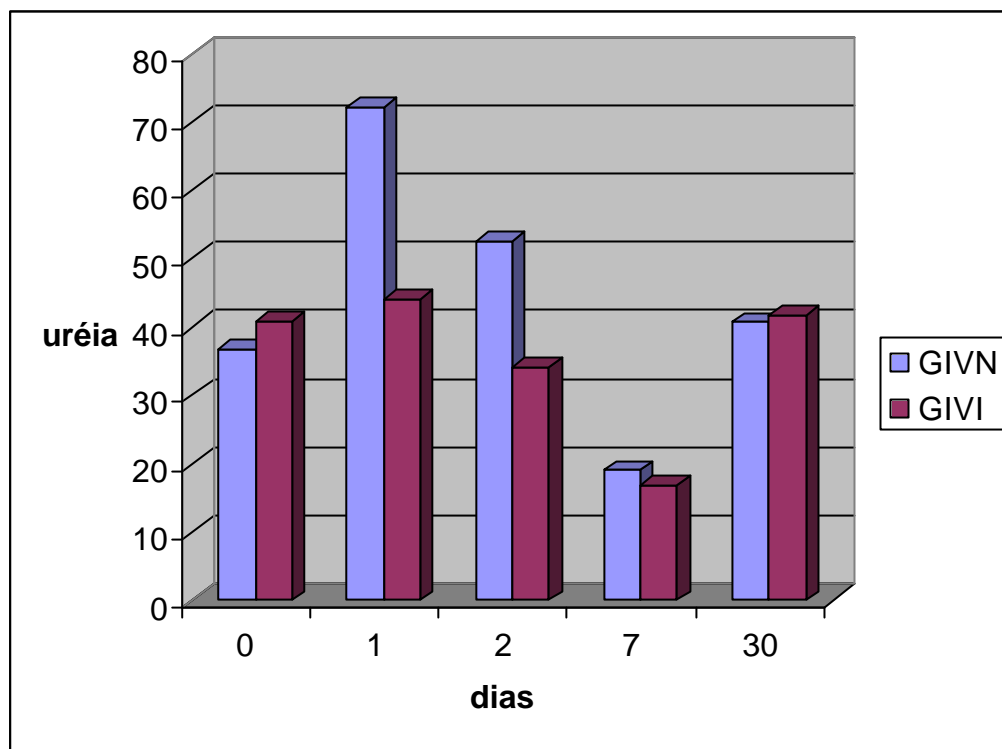


Figura 16. Médias, dos valores séricos de uréia (mg/dL) dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Os valores médios de uréia sérica mantiveram-se sem diferença estatística ($p > 0,05$), para os animais do grupo GIVI, durante todo o experimento. Para os animais do grupo GIVN, os valores médios de uréia sérica aumentaram no primeiro dia após a inoculação do veneno e passaram a decair gradativamente até o sétimo dia. No trigésimo dia, os valores estavam semelhantes, entre os animais dos dois grupos e em relação ao momento antes da inoculação dos venenos (tabela 17, figura 16 e quadro 5).

5.7.2. Nível sérico de creatinina

A tabela 18 mostra, e a figura 17 ilustra, os dados obtidos da mensuração sérica de creatinina nos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 18. Níveis séricos de creatinina (mg/dL) dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	0,8	0,9	0,8	0,69	0,73
	2	0,6	0,5	0,46	0,4	0,46
	3	0,84	0,9	0,65	0,65	0,61
	5	0,88	1	1	0,65	0,84
	6	1	1,1	0,88	0,73	0,65
	10	0,84	0,9	0,57	0,61	0,65
	X	0,83	0,88	0,73	0,62	0,66
GIVI	4	0,9	0,7	0,65	0,84	0,69
	7	1	0,69	0,73	0,88	0,69
	8	0,9	0,8	0,69	0,96	0,76
	9	0,8	0,69	0,53	0,65	0,61
	11	0,88	0,7	0,73	0,76	0,76
	12	0,96	0,8	0,76	0,92	0,96
	X	0,91	0,73	0,68	0,83	0,75

X = média aritmética

Médias não diferem significativamente ($p > 0,05$).

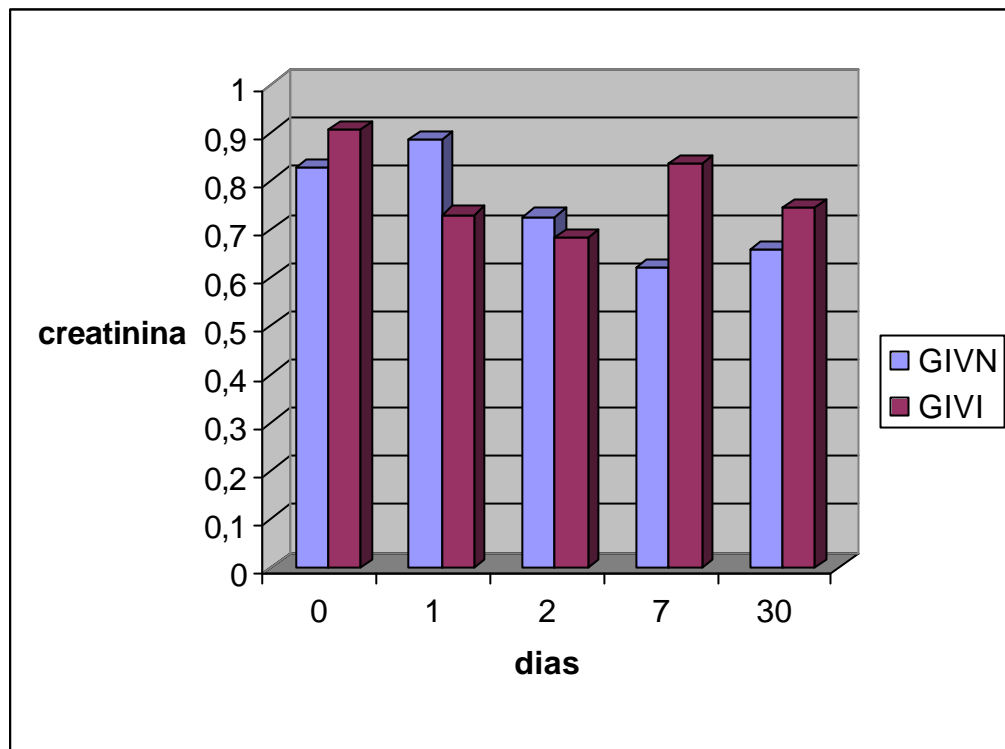


Figura 17. Médias, dos valores séricos de creatinina (mg/dL) dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Os valores das médias de creatinina sérica não se alteram significativamente ($p > 0,05$), ao longo de todo o experimento, para os animais de ambos os grupos (tabela 18, figura 17 e quadro 5).

5.7.3. Nível sérico de creatina quinase (CK)

A tabela 19 mostra, e a figura 18 ilustra, os dados obtidos da mensuração sérica de creatina quinase (CK) nos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 19. Níveis séricos de creatina quinase (U/L) dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	194	2259	4250	242	145
	2	194	922	1141	194	97
	3	218	2574	2161	218	170
	5	242	3011	6581	291	121
	6	145	3521	4906	218	242
	10	145	2623	2987	145	97
	X	189,67	2485	3671	218	145,33
			A	B	B	A
GIVI	4	218	558	364	315	170
	7	194	1530	1384	242	97
	8	121	194	194	218	145
	9	194	1239	1821	485	170
	11	170	1409	1020	170	121
	12	121	4590	3327	315	145
	X	169,67	1586,67	1351,67	290,83	141,33
			A	A	A	A

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

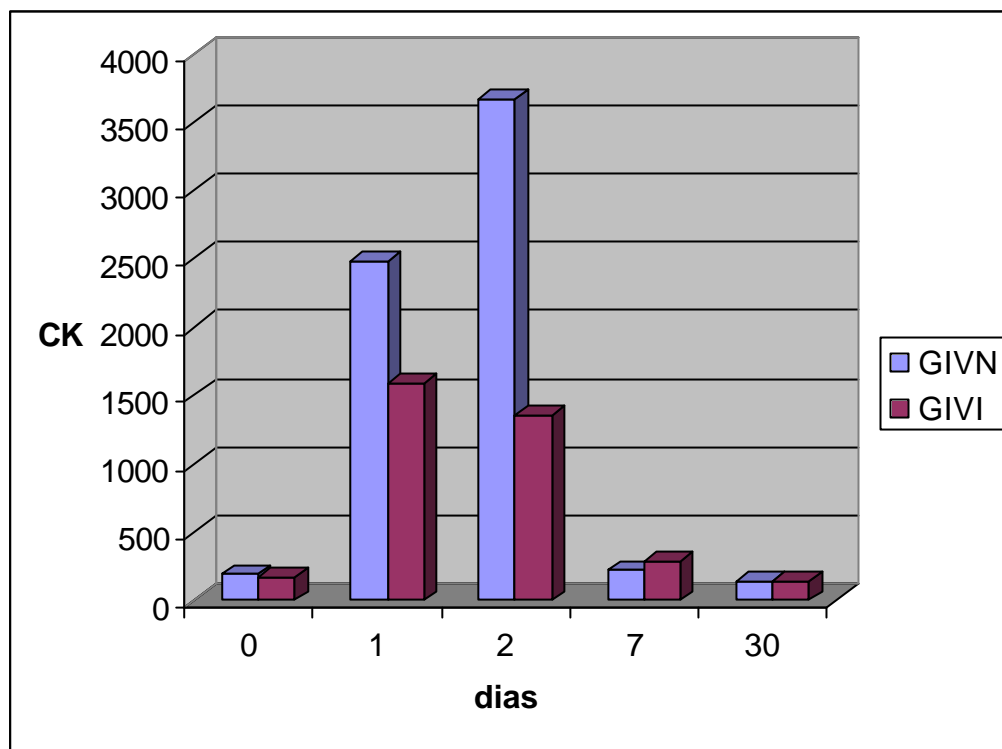


Figura 18. Médias, dos valores séricos de creatina quinase (U/L) dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Os valores séricos médios de creatina quinase elevaram-se um dia após a inoculação dos venenos, com elevação mais intensa nos animais do grupo GIVN. No segundo dia, estes valores continuaram a aumentar nos animais do grupo GIVN, e passaram a decair nos animais do grupo GIVI. No sétimo, dia estavam em valores semelhantes entre os dois grupos e em relação ao observado antes da inoculação dos venenos, e assim permaneceram até o trigésimo dia (tabela 19, figura 18 e quadro 5).

5.7.4. Nível sérico de aspartato aminotransferase (AST)

A tabela 20 mostra, e a figura 19 ilustra, os dados obtidos da mensuração sérica de aspartato aminotransferase (AST) nos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 20. Níveis séricos de aspartato aminotransferase (U/L) dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	89	141	382	220	73
	2	146	136	204	167	83
	3	89	104	371	162	73
	5	89	131	434	256	68
	6	83	141	466	340	78
	10	99	183	366	141	52
	X	99,17	139,33	370,5	214,33	71,17
		A	A	B	A	A
GIVI	4	104	115	115	89	73
	7	89	104	188	68	57
	8	68	94	62	47	57
	9	83	131	188	89	68
	11	115	178	277	136	83
	12	68	146	293	120	57
	X	87,83	128	187,17	91,5	65,83
		A	A	A	A	A

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

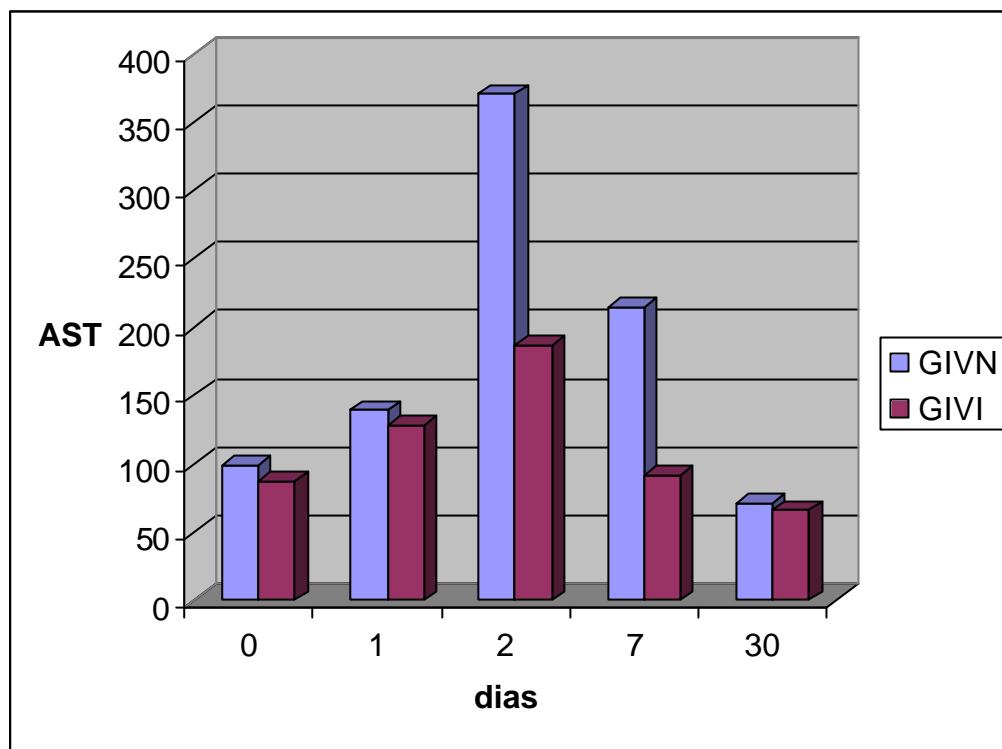


Figura 19. Médias, dos valores séricos de aspartato aminotransferase (U/L) dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Até o segundo dia após a inoculação dos venenos, os valores séricos médios de aspartato aminotransferase elevaram-se gradativamente em ambos os grupos, sendo que esta elevação foi mais intensa nos animais do grupo GIVN. No sétimo dia, os valores decaíram, e os animais do grupo GIVI apresentaram valores semelhantes ao observado antes da inoculação dos venenos. No trigésimo dia, os valores foram semelhantes, entre os animais dos dois grupos e em relação ao momento antes da inoculação dos venenos (tabela 20, figura 19 e quadro 5).

5.7.5. nível sérico de alanino aminotransferase (ALT)

A tabela 21 mostra, e a figura 20 ilustra, os dados obtidos da mensuração sérica de alanino aminotransferase (ALT) nos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 21. Níveis séricos de alanino aminotransferase (U/L) dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	20	20	52	41	15
	2	20	15	15	15	10
	3	26	20	36	31	10
	5	15	20	26	20	10
	6	15	20	36	36	10
	10	20	15	41	26	20
	X	19,33	18,33	34,33	28,17	12,5
		A	A	B	A	A
GIVI	4	20	20	15	10	15
	7	20	20	26	20	15
	8	15	15	10	10	15
	9	26	26	31	15	15
	11	20	15	31	15	15
	12	15	26	47	15	15
	X	19,33	20,33	26,67	14,17	15
		A	A	A	A	A

X = média aritmética

Médias acompanhadas de letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

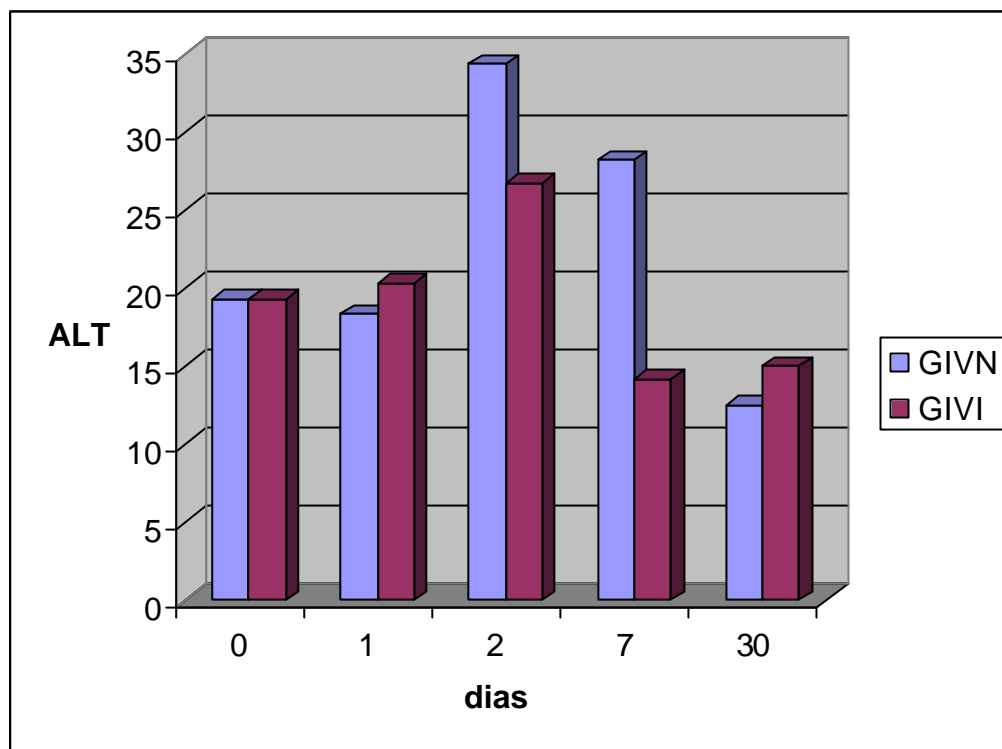
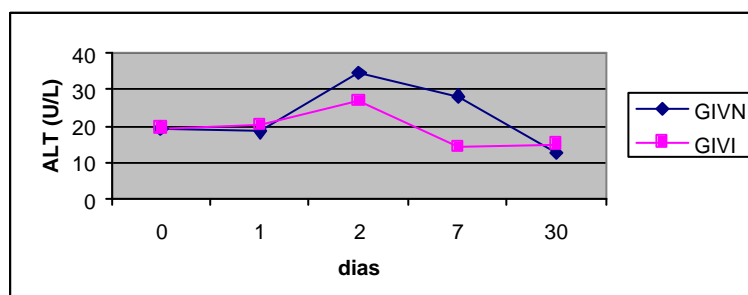
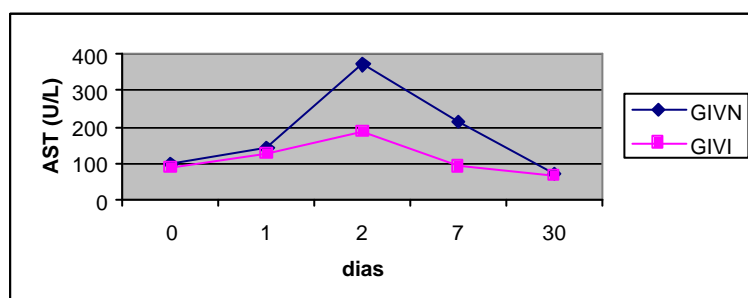
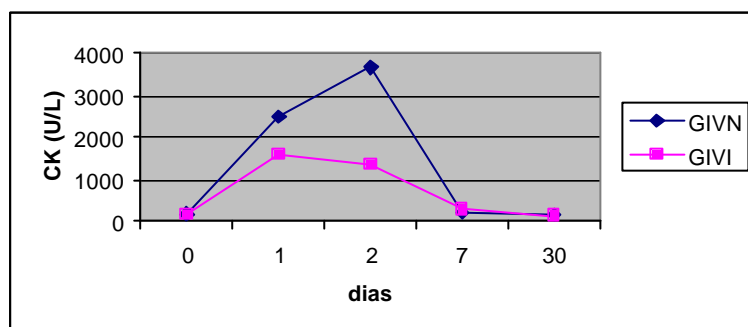
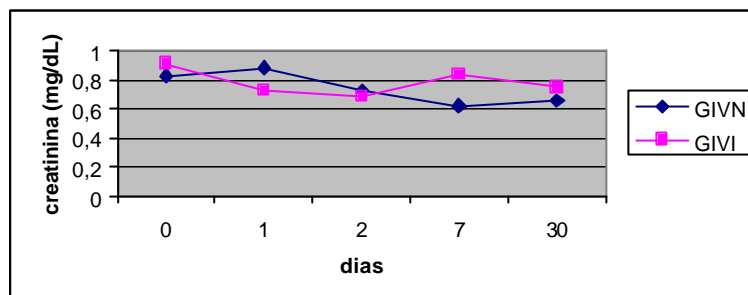
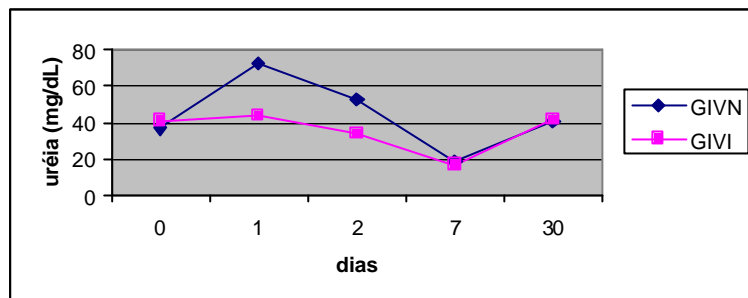


Figura 20. Médias, dos valores séricos de alanina aminotransferase (U/L) dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Os valores séricos médios de alanina aminotransferase elevaram-se apenas no segundo dia após a inoculação dos venenos em ambos os grupos, entretanto, este aumento foi maior nos animais do grupo GIVN. No sétimo dia, os valores decaíram, principalmente nos animais do grupo GIVI e, no trigésimo dia, estavam semelhantes, entre os animais dos dois grupos e em relação ao momento antes da inoculação dos venenos (tabela 21, figura 20 e quadro 5).



Quadro 5. Gráficos, representativos da evolução de parâmetros bioquímicos séricos dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

5.8. NÍVEIS SÉRICOS DE IMUNOGLOBULINAS TOTAIS

A tabela 22 mostra, e a figura 21 ilustra, os valores de imunoglobulinas totais obtidos da mensuração sérica dos animais dos grupos GIVN e GIVI.

Tabela 22. Valores séricos de imunoglobulinas totais (g/dL) obtidos dos animais dos grupos GIVN e GIVI antes da inoculação dos venenos botrópicos e um, dois, sete e trinta dias após esta inoculação, incluindo a média obtida a partir dos dados

GRUPOS	ANIMAIS e média	MOMENTOS (em dias após a inoculação dos venenos)				
		0	1	2	7	30
GIVN	1	3,48	2,79	2,89	4,1	3,92
	2	2,97	2,37	2,36	3,51	3,02
	3	2,85	1,03	3,14	2,81	3,66
	5	3,45	2,73	2,96	3,87	4,41
	6	3,47	2,18	2,2	3,5	4,2
	10	2,71	3,85	1,54	3,08	3,46
	X	3,15	2,49	2,52	3,48	3,78
GIVI	4	4,3	2,49	3,02	3,73	4,05
	7	3,81	2,02	3,34	3,67	3,41
	8	3,28	2,3	4,72	1,35	4,28
	9	4,38	3,57	3,42	4,56	4,88
	11	2,54	3,31	2,58	3,38	2,93
	12	2,96	3,28	3,32	2,62	3,33
	X	3,55	2,83	3,4	3,22	3,81

X = média aritmética

Médias não diferem significativamente ($p > 0,05$).

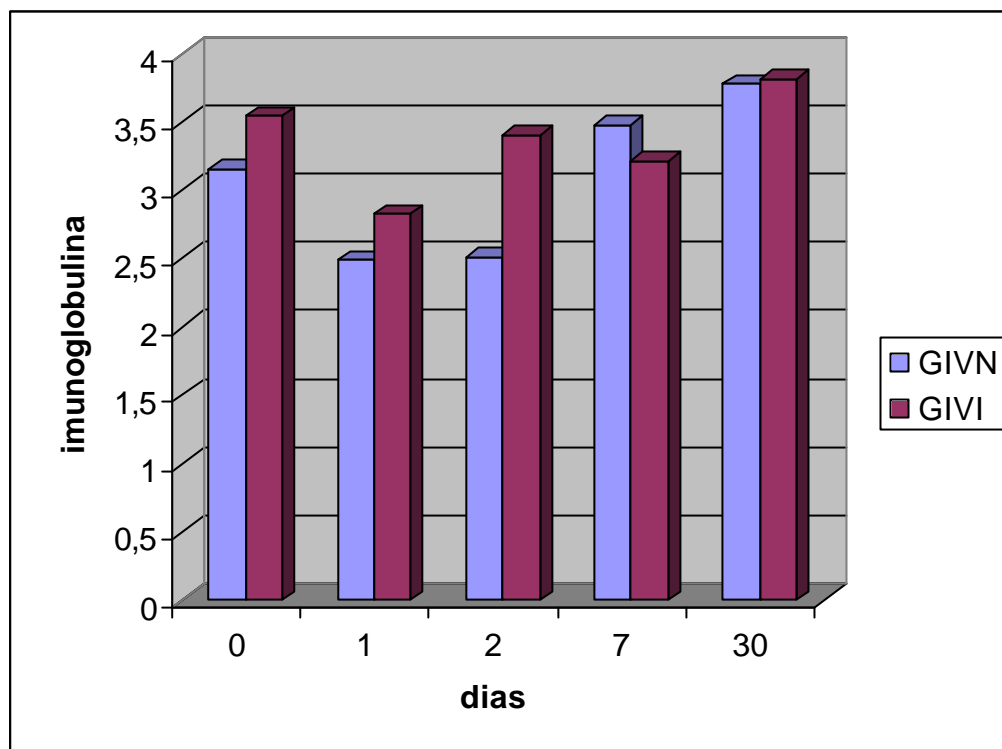


Figura 21. Médias, dos valores de imunoglobulinas séricas totais (g/dL) dos animais dos grupos GIVN e GIVI, antes e após a inoculação dos venenos.

Os valores das médias de imunoglobulinas séricas totais não se alteraram significativamente ($p > 0,05$) durante todo o experimento, para os animais de ambos os grupos (tabela 22 e figura 21).

6- DISCUSSÃO

No delineamento experimental decidiu-se avaliar parâmetros clínicos clássicos como temperatura retal, frequência cardíaca, pulso e frequência respiratória. Entretanto, influências ambientais, tais como estresse e temperatura ambiente instável, não permitiram a atribuição das variações observadas meramente à ação dos venenos inoculados nos animais de ambos os grupos, portanto, estes parâmetros não foram considerados na análise dos resultados.

Após a inoculação dos venenos, nos animais de ambos os grupos, observou-se o desenvolvimento de apatia e anorexia, além das alterações locais, caracterizadas como edema, dor, calor e rubor inflamatórios locais (tabelas 2 a 4, figuras 1 a 4 e quadro 1). Em nenhum animal, de ambos os grupos, foi observada qualquer lesão que pudesse ser caracterizada como solução de continuidade, hemorragia ou necrose. Estes dados contrariam as afirmações de Rosenfeld (1991), Rosenfeld et al (1959, 1970), Araújo et al (1963), Murtaugh, Kaplan (1992), Jorge et al. (1993) e Oliveira (1999), que relataram que os acidentes botrópicos caracterizam-se por edema, necrose, hemorragia, presença de bolhas, contaminação bacteriana e intensa dor no local da picada, bem como sinais sistêmicos manifestados na forma de enfartamento ganglionar, equimose, sudorese, hipotermia, hemorragias internas, hipotensão, insuficiência renal e sinais de choque. As hemorragias, derivadas da ação coagulante da peçonha botrópica, são colocadas em foco nos trabalhos de Nahas et al. (1979), Mandelbaum et al. (1982), Marlas et al. (1983), Zingali et al. (1988, 1990, 1993), Andrews et al. (1989), Kamiguti, Cardoso (1989), Moura da Silva et al. (1990),

Markland (1991), Robeva et al. (1991), Paine et al. (1992), Tanigawa et al. (1993), Usami et al. (1993, 1994), Nishida et al. (1994), Barraviera, Pereira (1994), Sano-Martins et al. (1995) e Castro et al. (1999).

Não foram observados sinais neurológicos, corroborando a afirmação de que o veneno botrópico não atinge o sistema nervoso (Rosenfeld et al., 1970), no entanto, contraria os relatos de Pinho, Burdmann (2001), Souza et al. (2002) e Mosquera et al. (2003).

A seletividade na apresentação dos sinais clínicos, da intoxicação botrópica experimental, provavelmente se deu em decorrência da dose de veneno inoculada (0,5 mg/kg), recomendada por Araújo et al. (1963), que seria capaz de provocar os sinais clínicos da intoxicação sem levar à morte. As alterações locais e sistêmicas observadas foram mais intensas nos animais pertencentes ao grupo inoculado com veneno nativo (GIVN), em comparação àquelas evidenciadas nos animais do grupo inoculado com veneno irradiado (GIVI), indicando menor agressividade da peçonha irradiada.

Embora não fizesse parte do delineamento deste experimento, pôde-se observar que os animais de ambos os grupos experimentais se mostraram mais ativos, aumentaram o consumo de alimentos, ganharam peso e mostraram melhoras em suas características de pelagem, quando comparados entre o momento antes da inoculação dos venenos e trinta dias após. Aparentemente, as peçonhas estimularam os organismos dos caprinos ou combateram algum agente injuriante, não identificado, presente antes da inoculação dos venenos. Esta hipótese é possível considerando-se os relatos da utilização de venenos, ou de seus

componentes, com fins terapêuticos realizados por Fenard et al. (1999), Bailey, Wilce (2001), Correa et al. (2002), Silva et al. (2002a e 2002b) e Gonçalves et al. (2002).

Os valores de contagem de hemácias, mensuração da hemoglobina sérica e volume globular sofreram quedas gradativas até o sétimo dia após a inoculação dos venenos, entretanto, no trigésimo dia todos estes parâmetros haviam aumentado e estavam acima dos níveis observados antes da inoculação (tabelas 6 a 8, figuras 5 a 7 e quadro 2), corroborando os dados de Barraviera (1993), que relatou aumento do hematócrito e da hemoglobina, mas contraria Sano-Martins et al. (1995) que afirmaram que a série vermelha não se altera. Os incrementos na contagem de hemácias, hemoglobina e volume globular, observados no trigésimo dia após a inoculação dos venenos, sugerem que ambas as peçonhas estimularam os organismos, de forma inespecífica (imunidade inata), ou combateram possíveis agentes agressores não identificados. As quedas nos valores mensurados foram mais intensas nos animais submetidos à inoculação do veneno nativo (GIVN), e os aumentos foram maiores nos animais que receberam o veneno irradiado (GIVI), indicando que o veneno nativo foi mais prejudicial.

As contagens globais de leucócitos (tabela 9 e figura 8) aumentaram no primeiro dia após a inoculação dos venenos, tal qual descreveram Barraviera (1993) e Sano-Martins et al. (1995), e passaram a decair a partir do segundo dia, atingindo, no trigésimo dia, contagens inferiores ao observado antes da inoculação. Este comportamento, das células de defesa, demonstra a imunogenicidade tanto do veneno nativo quanto do irradiado. As menores

contagens de leucócitos no trigésimo dia podem indicar que os animais estariam mais resistentes a agentes injuriantes não identificados, ou estes agentes poderiam ter sido atingidos pelos venenos. O aumento nas contagens globais de leucócitos foi mais intenso e mais persistente nos animais que receberam o veneno irradiado (figura 8), demonstrando maior ativação do sistema imune pelo veneno irradiado.

Antes da inoculação dos venenos nos animais de ambos os grupos experimentais, os bastonetes não estavam presentes nas contagens diferenciais de leucócitos. Porém, se apresentaram no primeiro dia, após a inoculação dos venenos nos animais de ambos os grupos, confirmando o relato de Barraviera (1993), e o fato ocorreu mais intensamente nas contagens diferenciais dos leucogramas dos animais que receberam o veneno irradiado. Estas células não foram encontradas nos leucogramas realizados no segundo e sétimo dias após as inoculações e, no trigésimo dia, estavam presentes em contagens semelhantes entre os dois grupos (tabela 10, figura 9 e quadro 3). A presença dos bastonetes é esperada em resposta aos processos inflamatórios locais que se instalaram em todos os animais, entretanto, o maior incremento, observado nos animais do grupo inoculado com veneno irradiado (figura 9), demonstra maior capacidade de ativação do sistema imune pelo veneno irradiado.

A inoculação dos venenos, nos animais de ambos os grupos, estimulou a resposta imune com aumento nas concentrações sanguíneas de células tipo neutrófilo, corroborando os relatos de Barraviera (1993) e Sano-Martins et al. (1995). No primeiro e segundo dia após as inoculações dos venenos, as elevações nas contagens de neutrófilos foram mais intensas nos animais que receberam o

veneno nativo (GIVN), provavelmente em decorrência do processo inflamatório mais intenso nos animais deste grupo. A partir do sétimo dia, até o trigésimo dia, as contagens de neutrófilos estavam dentro de padrões normais e semelhantes entre si, refletindo o desaparecimento do processo inflamatório local nos animais de ambos os grupos.

Antes da inoculação dos venenos, o número de linfócitos era menor nos animais que seriam inoculados com veneno irradiado, já no primeiro dia após a inoculação, observou-se queda proporcional, entre os grupos GIVN e GIVI, na contagem dessas células (tabela 12, figura 11 e quadro 3), corroborando os dados de Barraviera (1993). No segundo dia, as contagens se elevaram, entretanto, esta elevação foi maior nos animais que receberam o veneno irradiado (GIVI). No sétimo dia as contagens de linfócitos foram semelhantes entre os grupos, pois o número de linfócitos se manteve constante nos animais do grupo GIVN e decaíram nos animais do grupo GIVI. Ambas as contagens continuaram decaindo proporcionalmente até o trigésimo dia (tabela 12, figura 11 e quadro 3).

A contagem de eosinófilos era maior nos animais que receberam o veneno nativo (GIVN), reduzindo-se nos animais de ambos os grupos no primeiro dia após a inoculação dos venenos, com queda mais intensa nos animais do grupo GIVN. Do segundo dia em diante, as contagens mantiveram-se constantes e semelhantes entre os animais dos dois grupos experimentais (tabela 14, figura 13 e quadro 3). Não foram encontrados na literatura dados sobre o comportamento de eosinófilos na intoxicação botrópica. As reduções nas contagens de eosinófilos, observadas nos animais de ambos os grupos, e maiores nos animais do grupo

GIVN, foram decorrentes e proporcionais aos processos inflamatórios nos locais das inoculações, pois as inflamações foram mais intensas nos animais do grupo GIVN. A manutenção da contagem de eosinófilos, em valores inferiores ao observado antes das inoculações, sugere que os venenos possam ter eliminado ou reduzido algum fator indutor de eosinófilos não identificado.

As reduções nas contagens de linfócitos e eosinófilos, bem como os incrementos nas contagens de neutrófilos refletem a tríade da resposta inflamatória normal (Jain, 1993).

As contagens de monócitos estiveram acima dos valores obtidos antes da inoculação em todos os momentos, confirmando os dados de Sano-Martins et al. (1995), estando mais elevadas ora nos animais pertencentes ao grupo GIVN, ora nos animais do grupo GIVI (tabela 13, figura 13 e quadro 3). Embora não tenham sido percebidas diferenças significativas entre os dois grupos, a elevação na contagem de monócitos é de importância indiscutível, pois estas células são importantes apresentadoras de antígenos aos linfócitos B produtores de imunoglobulinas (Jain, 1993).

Após a inoculação dos venenos, o tempo de coagulação sanguínea total aumentou em ambos os grupos, passando a decair gradativamente até o sétimo dia e voltando a aumentar no trigésimo dia (tabela 15, figura 14 e quadro 4). A evolução do tempo de coagulação até o sétimo dia de experimento corrobora os relatos de Rosenfeld et al. (1959, 1970), Nahas et al. (1979), Marlas et al. (1983), Zingali et al., (1988), Kamiguti, Cardoso (1989), Barraviera, Pereira (1994), Oliveira (1999), Sano-Martins et al. (1995) e Oliveira (1999), que relataram a

ação coagulante, intimamente relacionada à ação hemorrágica, da peçonha botrópica, interferindo na hemostasia. No primeiro e segundo dia após a inoculação dos venenos, a média dos tempos de coagulação foi superior nos animais que receberam o veneno nativo (GIVN), com valores semelhantes no sétimo e trigésimo dia, entretanto, o aumento observado, em ambos os grupos no trigésimo dia não deve ser considerado, pois a temperatura ambiente inferior no trigésimo dia, em relação às dos outros dias de coleta, pode ter interferido neste parâmetro. A menor alteração do tempo de coagulação, observada nos animais que receberam o veneno irradiado (GIVI), demonstra menor influência da amostra de veneno irradiado sobre os fatores de coagulação.

No primeiro e segundo dia após a inoculação dos venenos, em ambos os grupos experimentais, observou-se intensa agregação plaquetária, impossibilitando as contagens, confirmando os relatos de Usami et al. (1994), que atribuíram esta propriedade à jararagina C, e Andrews et al. (1989) e Usami et al. (1993), que indicaram a botrocetina como desencadeadora desta agregação. No sétimo dia, as contagens de plaquetas haviam aumentado em ambos os grupos, contrariando os relatos de Sano-Martins et al. (1995), que relataram trombocitopenia nas intoxicações botrópicas. As contagens de plaquetas, no trigésimo dia após a inoculação dos venenos, mostraram-se semelhantes entre os dois grupos experimentais e em relação às observadas antes das inoculações. A irradiação do veneno em fonte de ^{60}Co parece não ter influenciado no comportamento plaquetário.

No primeiro dia após a inoculação dos venenos, o nível sérico de uréia sofreu aumento nos animais do grupo inoculado com veneno nativo (GIVN), e não houve diferença para os animais inoculados com veneno irradiado (GIVI). A partir do segundo dia após a inoculação, esses níveis passaram a ser decrescentes e, no trigésimo dia, estavam, em ambos os grupos, semelhantes ao observado antes da inoculação (tabela 17, figura 16 e quadro 5), corroborando, parcialmente, os dados de Rezende et al. (1989), Hudelson, Hudelson (1995), Oliveira (1999), Havt et al. (2001), Barbosa et al. (2002) e Boer-Lima et al (2002), que afirmaram que a ação nefrotóxica da peçonha botrópico leva à insuficiência renal aguda grave. É possível que o incremento no nível sérico de uréia não tenha sido devido à lesão renal, mas apenas um aumento de origem pré-renal desencadeado por desidratação subclínica. Os menores níveis de uréia, observados nos animais inoculados com veneno irradiado (GIVI), demonstram a menor capacidade da amostra de veneno irradiado em induzir a desidratação com uremia pré-renal.

Os níveis séricos de creatinina pouco se alteraram ao longo do experimento em ambos os grupos (tabela 18, figura 17 e quadro 5), demonstrando que as lesões renais, que possivelmente se instalaram, não foram suficientes para induzir insuficiência renal aguda grave o bastante para que obtivesse alterações neste parâmetro bioquímico, contrariando os dados de Rezende et al. (1989), Hudelson, Hudelson (1995) e Oliveira (1999).

As enzimas musculares mensuradas, que foram creatina quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e alanino aminotransferase (ALT); demonstraram comportamentos semelhantes, com aumentos no primeiro dia após

a inoculação dos venenos e graduais decréscimos que, no trigésimo dia, alcançaram níveis semelhantes aos observados antes da inoculação (tabelas 19 a 21, figuras 18 a 20 e quadro 5), confirmando as afirmações de Gutierrez et al. (1984), Queiroz et al. (1985), Assakura et al. (1986), Barraviera (1993), Hudelson, Hudelson (1995), Oliveira (1999) e Calil-Elias et al. (2002), que relataram a existência de ação proteolítica baseada em enzimas contidas no veneno botrópico, destruindo o tecido e causando grave necrose local. Porém, os animais inoculados com veneno nativo (GIVN) exibiram níveis séricos dessas enzimas superiores àqueles observados nos animais que receberam o veneno irradiado (GIVI), coincidindo com os dados de observação clínica de sinais inflamatórios locais (dor, calor, rubor e edema), indicando menor capacidade proteolítica da amostra de veneno irradiada. Entretanto, deve-se considerar a possível existência de lesão hepática concomitante, pois essas enzimas não são específicas para lesões musculares, podendo também indicar lesões hepáticas.

Os níveis séricos de imunoglobulinas totais mantiveram-se constantes, sem diferença significativa, ao longo de todo experimento em ambos os grupos. Provavelmente, a falta de sensibilização prévia, dos animais de ambos os grupos experimentais, implicou na manutenção dos níveis séricos de imunoglobulinas totais, prejudicando a análise deste parâmetro. Entretanto, pôde-se observar que não houve depressões nas mensurações séricas de imunoglobulinas totais em ambos os grupos.

O veneno de serpente *B. jararaca*, irradiado em fonte de ^{60}Co , causou menos danos orgânicos aos caprinos do experimento, demonstrados por sinais

locais mais brandos e menores alterações dos tempos de coagulação, níveis séricos de uréia e enzimas musculares e parâmetros hematológicos, confirmando os relatos de Salafranca (1972 e 1973), Kankonkar (1974), Gaitonde, Baride (1981), Murata (1987), Murata, Rogero (1988), Costa, Rogero (1988), Hati (1989), Murata (1990), Rogero, Nascimento (1995) e Nascimento (1996), que relataram a redução das propriedades tóxicas dos venenos quando irradiados pelo ^{60}Co .

7- CONCLUSÕES

Perante às condições nas quais foi realizado este experimento, principalmente em se considerando a inoculação de 0,5 mg/kg de peso vivo do veneno de serpente *B. jararaca* nativo ou irradiado em fonte de ^{60}Co em caprinos, pôde-se concluir que:

1. a inoculação intramuscular do veneno, nativo ou irradiado, mimetiza parcialmente a intoxicação natural por este veneno, pois embora haja o desenvolvimento de edema, calor, dor e rubor locais, não se estabelece solução de continuidade, hemorragia ou necrose externas. As alterações locais e sistêmicas são mais brandas em caprinos inoculados com o veneno irradiado.
2. as quedas nos valores de hemoglobina, contagem de hemácias e volume globular são menos intensas em caprinos inoculados com veneno irradiado.
3. os aumento nas contagens globais de leucócitos é mais intensa e mais persistente nos caprinos inoculados com veneno irradiado.
4. o incremento na contagem de bastonetes é maior nos caprinos que são inoculados com veneno irradiado, portanto, este veneno é mais eficaz no estímulo imunogênico.
5. as menores alterações nas contagens diferenciais de neutrófilos, de linfócitos e de eosinófilos, nos caprinos que recebem o veneno irradiado, são proporcionais aos processos inflamatórios locais menos intensos nesses animais.

6. as contagens de monócitos elevam-se semelhantemente, perante a inoculação do veneno nativo ou irradiado.
7. o tempo de coagulação do sangue total eleva-se perante à inoculação do veneno nativo ou irradiado, porém, este aumento é menos intenso nos animais que recebem o veneno irradiado.
8. o veneno nativo ou irradiado provoca agregação plaquetária, com posterior elevação nas contagens de plaquetas.
9. a inoculação do veneno nativo induz aumento no nível sérico de uréia, mas em animais que recebem o veneno irradiado os níveis séricos de uréia não se alteram.
10. os níveis séricos de creatinina pouco se alteram pela inoculação de veneno nativo ou irradiado, portanto, não ocorre insuficiência renal.
11. perante à inoculação do veneno nativo ou irradiado, os níveis séricos das enzimas musculares, creatina quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e alanino aminotransferase (ALT) se elevam. Porém, os animais inoculados com veneno nativo exibem níveis séricos dessas enzimas superiores àqueles observados nos animais que recebem o veneno irradiado.
12. a inoculação única em caprinos, sem sensibilização prévia, com veneno nativo ou irradiado não gera alterações nos níveis séricos de imunoglobulinas totais.
13. a irradiação do veneno botrópico reduz os danos orgânicos causados a caprinos inoculados com este veneno, demonstrado por menor processo

inflamatório local, menor redução das contagens de hemácias, teor de hemoglobina e volume globular, menor indução de uremia e menor aumento das enzimas musculares.

14. O veneno irradiado é mais recomendado do que o nativo na inoculação de animais produtores de soro antiofídico.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, C.M.; KANASHIRO, M.M.; RANGEL-FILHO, F.B.; MATA, M.F.; KIPNIS, T.L.; DA-SILVA, W.D. Development of snake antivenom antibodies in chickens and their purification from yolk. **Vet. Rec.**, London, v. 143, n. 21, p. 579-584, 1998.

ANDREWS, R.K.; BOOTH, W.J.; GORMAN, J.J.; CASTALDI, P.A.; BERNDT, M.C. Purification of botrocetin from *Bothrops jararaca* venom. Analysis of the botrocetin-mediated interaction between von Willwbrand factor and the human platelet membrane glycoprotein Ib-IX complex. **Biochemistry**, Washington, v. 28, n. 21, p. 8317-8326, 1989.

ANGULO, Y.; ESTRADA, R.; GUTIERREZ, J.M. Clinical and laboratory alterations in horses during immunization with snake venoms for the production of polyvalent (*Crotalinae*) antivenom. **Toxicon**, Oxford, v. 35, n. 1, p. 81-90, 1997.

ARAÚJO, P.; BELLUOMINI, H.E. Toxicidade de venenos ofídicos – Sensibilidade específica de animais domésticos e de laboratório. **Mem. Inst. Butantan**, São Paulo, v. 30, p. 133-142, 1962.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação – Referências – Elaboração, Rio de Janeiro, 2002, 24p.

BIOSIS. Serial sources for the BIOSIS preview database. Philadelphia, 1996. 468p.

ARAÚJO, P.; ROSENFELD, G.; BELLUOMINI, H.E. Toxicidade dos venenos ofídicos – Doses Mortais para Bovinos. **Arq. Inst. Bio.**, São Paulo, v30, p.42-52, 1963.

ASSAKURA, M.T.; REICHL, A.P.; MANDELBAUM, F.R. Comparison of immunological, biochemical and biophysical properties of three hemorrhagic factors isolated from the venom of *Bothrops jararaca* (Jararaca). **Toxicon**, Oxford, v. 24, n. 9, p. 946, 1986.

BAILEY, P; WILCE, J Venom as a source of useful biologically active molecules.[Miscellaneous Article]. **Emerg. Med.**, New York, v. 13(1), p. 28-36, 2001.

BARBOSA, PS.; HAVT, A.; FACO, P.E.; SOUSA, T.M.; BEZERRA, I.S.; FONTELES, M.C.; TOYAMA, M.H.; MARANGONI, S.; NOVELLO, J.C.; MONTEIRO, H.S. Renal toxicity of *Bothrops moojeni* snake venom and its main myotoxins. **Toxicon**. Oxford. v. 40, n.10, p.1427-1435, 2002.

BARRAVIERA, B. Estudos clínicos dos acidentes ofídicos (Revisão). **Brás. Méd.**, Rio de Janeiro, v. 65, p. 209-250, 1993.

BARRAVIERA, B.; BONJORNO Jr, J.C.; ARAKAKI, D.; DOMINGUES, M.A.C.; PEREIRA, P.C.M.; MENDES, R.P.; MARCONDES-MACHADO, J.; MEIRA, D.A. A retrospective study of 40 victims of *Crotalus* snake bites. Analysis of the hepatic necrosis observed in one patient. **Rev. Soc. Brás. Méd. Trop.**, Brasília, v. 22, n. 5, p. 5-12, 1989.

BARRAVIERA, B.; PEREIRA, P.C.M. Acidentes por serpentes do gênero *Bothrops*. In_____ BARRAVIERA, B. **Venenos Animais:** uma visão integrada. Rio de Janeiro : Editora de Publicações Científicas, 1994. 411p.

BELLUOMINI, H.E. Conhecimento sobre as serpentes brasileiras e medidas de prevenção de acidentes. **Rev. Brás. Saúde Ocup.**, São Paulo, v. 12, n.45, p. 82-96, 1984.

BOCHNER, R.; STRUCHINER C.J. Snake bite epidemiology in the last 100 years in Brazil: a review. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n.1, p. 7-16, 2003.

BOER-LIMA, P.A.; GONTIJO, J.A.; CRUZ-HOFLING, M.A. Bothrops moojeni snake venom-induced renal glomeruli changes in rat. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, Lawrence, v. 67, n.2, p. 217-222, 2002.

BRAZIL, V. Do Envenamento ophidico e seu tratamento. Conferência realizada no dia 1º de Dezembro de 1901, na Escola de Pharmácia. **Colet. Trab. Inst. Butantan**, São Paulo, v. 1, p. 31-52, 1918.

BÜRCHEL, W. **Acúleos que matam**. 3. ed Rio de Janeiro : Kosmos, 1980. 152 p.

CALIL-ELIAS, S.; THATTASSER, Y.E.; MARTINEZ, A.M.; MELO, P.A. Effect of perimuscular injection of *Bothrops jararacussu* venom on plasma creatine kinase levels in mice: influence of dose and volume. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 35, n.10, p. 1233-1235, 2002.

CASTRO, H.C.; FERNANDES, M.; ZINGALI, R.B. Identification of Bothrojaracin-like proteins in snake venoms from *Bothrops* species and *Lachesis muta*. **Toxicon**, Oxford, v. 37, p. 1403-1416, 1999.

CORREA, M.C.JR.; MARIA, D.A.; MOURA-DA-SILVA, A.M.; PIZZOCARO, K.F.; RUIZ, I.R. Inhibition of melanoma cells tumorigenicity by the snake venom toxin jararhagin. **Toxicon**, Oxford, v.40, n.6, p. 739-748, 2002.

COSTA, T.A.; ROGERO, J.R. Dano da radiação gama em crotamina (toxina de cascavel brasileira). **PUBL. IPEN**, São Paulo, v. 151, Jul 1988.

DART, R.C. Human trial of na affinity purified antibody fragment for snake venom poisoning. **Vet. Hum. Toxicol.**, Manhattan, v. 36, p. 363, 1994.

SOUZA QUEIROZ, L.; MARQUES, MJ.; SANTO NETO, H. Acute local nerve lesions induced by *Bothrops jararacussu* snake venom. **Toxicon**, Oxford, v. 40, n.10, p. 1483-1486, 2002.

EGEN, N. A new ovine Fab antivenom for north american venomous snakes. **Vet. Human. Toxicol.**, Manhattan, v. 36, p. 362, 1994.

FENARD, D; LAMBEAU, G; VALENTIN, E; LEFEBVRE, J; LAZDUNSKI, M; DOGLIO, A Secreted phospholipases A2, a new class of HIV inhibitors that block virus entry into host cells.[Miscellaneous Article]. **J. Clin. Invest.**, New York, v. 104, n.5, p. 611-618, 1999.

GAITONDE, B.B.; BARIDE, R.M. Toxioidation of venoms of poisonous indian snakes. **Indian J. Med. Res.**, New Delhi, v. 73, p. 115-121, Jan. 1981.

GAY, C. C. Exame Clínico de Ovinos e Caprinos. In_____ RADOSTITS, M.; MAYHEW, I.G.; HOUSTON, D.M. **Exame clínico e diagnóstico em Veterinária**, Rio de Janeiro : 2002 p. 140-148.

GONCALVES A.R.; SOARES M.J.; DE SOUZA, W.; DAMATTA R.A.; ALVES, E.W. Ultrastructural alterations and growth inhibition of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania major* induced by *Bothrops jararaca* venom. **Parasitol. Res.**, Berlim, v. 88, n.7, p. 598-602, 2002.

GUIDOLIN, R., et al. Esterilização de soros e vacinas por radiação gama de Cobalto. **Rev. Saúde Públ.**, São Paulo, v. 22, p. 113-117, 1988.

GUIDOLIN, R.; SILVA, W.D.; HIGASHI, H.G.; CARICATI, C.P.; LIMA, M.L.S.R.; MORAIS, J.F.; PINTO, J.R.; MARCELINO, J.R. Hiperimunização de cavalos soroprodutores com venenos botrópicos e crotálico tratados por glutaraldeído. **Mem. Inst. Butantan**, São Paulo, v. 51, n. 3, p. 85-90, 1989.

GUTIÉRREZ, J.M.; OWNBY, C.L.; ODELL, G.V. Pathogenesis of myonecrosis induced by crude venom and a myotoxin of *Bothrops asper*. **Exp. Mol. Pathol.**, Orlando, v. 40, p. 367-379, 1984.

HATI, A.K. The effect of gamma irradiated detoxified viper venom as a toxoid against viper venom. **The Snake**, Yabuzuka Honmachi, v. 21, p. 36-40, 1989.

HAVT, A.; FONTELES, M.C.; MONTEIRO, H.S. The renal effects of *Bothrops jararacussu* venom and the role of PLA(2) and PAF blockers. **Toxicon**, Oxford, v.39, n.12, p. 1841-1846, 2001.

HUDELSON, S.; HUDELSON, P. Pathophysiology of snake envenomization and evaluation of treatments. Part 1 **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.**, Princeton, v. 17, n. 7, p. 889-896, 1995.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. 5. ed Philadelphia : Lea & Febiger, 1993. 417p.

JORGE, M.T.; RIBEIRO, L.A.; SILVA, M.L.R.; KUSANO, E.J.U.; MENDONÇA, J.S. Microbiological studies of abscesses complicating *Bothrops* snakebite in humans: a prospective study. **Toxicon**, Oxford, v. 32, n. 6, p. 743-748, 1993.

KAMIGUTI, S.A.; CARDOSO, J.L.C. Haemostatic changes caused by the venoms of South American snakes. **Toxicon**, Oxford, v. 27, p. 955-963, 1989.

KANEKO, J.J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed New York : Academic Press, 1997. 932 p.

KANKONKAR, S.R. Irradiated cobra (*Naja Naja*) venom for biomedical applications. **L.A.E.A. -SM**, v. 192, p.253-262, 1974.

KELEN, E.M.A.; ROSENFELD, G.; NUDEL, F. Hemolytic activity of animal venoms – Variation in relation to erythrocyte species. **Mem. Inst. Butantan**, São Paulo, v. 30, p. 133-142, 1962.

LI, Q.; OWNBY, C.L. Evaluation of four different immunogens for the production of snake antivenoms. **Toxicon**, Oxford, v. 30, n. 11, p. 1319-1330, 1992.

MANDELBAUM, F.R.; REICHEL, A.P.; ASSAKURA, M.T. Isolation and characterization of a proteolytic enzyme from the venom of the snake *Bothrops jararaca* (jararaca). **Toxicon**, Oxford, v. 20, p. 955-972, 1982.

MARKLAND Jr, F.S. Inventory of alfa - and beta – fibrinogenases from snake venom. **Thromb. Haemost.**, Stuttgart, v. 65, p. 438-443, 1991.

MARKLAND, F.S. Review Paper – Snake venoms and the hemostatic system. **Toxicon**, Oxford, v. 36, n. 12, p. 1749-1800, 1998.

MARLAS, G.; JOSEPH, D.; HUET, C. Subunit structure of a potent platelet-activating glycoprotein isolated from the venom of *Crotalus durissus cascavella*. **Biochimic.**, Paris, v. 65, p. 619-628, 1983.

MARUYAMA, M.; TANIGAWA, M.; SUGIKI, M.; YOSHIDA, E.; MIHARA, H., Purification and characterization of low molecular weight fibrinolytic/hemorrhagic enzymes from snake (*Bothrops jararaca*) venom. **Enzyme Protein.**, Basel, v. 47, n. 3, p. 124-135, 1993.

MORAIS, J.F. Snake antivenoms from hyperimmunized horses: Comparison of the antivenom activity and biological properties of their whole IgG and F(ab)₂ fragments. **Toxicon**, Oxford, v. 32, p. 725-734, 1994.

MOSQUERA, A; IDROVO, L.A.; TAFUR, A; DEL B; OSCAR, H. Stroke following *Bothrops* spp. snakebite. **Neurology**, Cleveland, v. 60, n.10, p. 1577-1580, 2003.

MOURA-DA-SILVA, A.M.; CARDOSO, D.F.; TANIZAKI, M.M. Differences in distribution of myotoxic proteins in venoms from different *Bothrops* species. **Toxicon**, Oxford, v. 28, p. 1293-1301, 1990.

MURATA, Y. Effects of gamma radiation on *Crotalus durissus terrificus* venom. **Arq. Biol. Tecnol.**, Curitiba, v. 30, p. 196, 1987.

MURATA, Y. Gamma irradiation reduces the toxic activities of *Crotalus durissus terrificus* venom but does not affect their immunogenic activities. **Toxicon**, Oxford, v. 28, p. 617-618, 1990.

MURATA, Y.; ROGERO, J.R. Análise cromatográfica por exclusão de amostras de veneno de cascavel irradiadas com Co60. **PUBL. IPEN**, v.154, p. 1-7, Jul, 1988.

MURTAUGH, R.J.; KAPLAN, P.M. **Veterinary emergency and critical care medicine**, Missouri : Mosby, 1992. 685 p.

NAHAS, L.; KAMIGUTI, A.S.; BARROS, M.A.R. Thrombin-like and factor X-activator components of *Bothrops* snake venoms. **Thromb. Haemost.**, Stuttgart, v. 41, p. 314-328, 1979.

NASCIMENTO, N. Influence of ionizing radiation on crotoxin: biochemical and immunological aspects. **Toxicon**, Oxford, v. 34, p. 123-131, 1996.

NISHIDA, S.; FIGIMURA, Y.; MIURA, S.; OZAKI, Y.; USAMI, Y.; SUZUKI, M.; TITANI, K.; YOSHIDA, E.; SUGIMOTO, M.; YOSHIOKA, A. Purification and characterization of bothrombin, a fibrinogen-clotting serine protease from the venom of *Bothrops jararaca*. **Biochemistry**, Washington, v. 33, n. 7, p. 1843-1849, 1994.

OLIVEIRA, M.M.V. Serpentes venenosas, diagnóstico e tratamento dos acidentes ofídicos. **Cad. Téc. Esc Vet UFMG**, Belo Horizonte, n. 28, p. 1-66, 1999.

PAINE, M.J.I.; DESMOND, H.P.; THEAKSTON, R.D.G.; CRAMPTON, J.M. Purification, cloning and molecular characterization of a high molecular weight haemorrhagic metalloprotease, jararhagin, from *Bothrops jararaca* venom. **J. Biol. Chem.**, *athesda*, v. 267, p. 22869-22876, 1992.

PINHEIRO JR, G.C. **Caprinos no Brasil**: Belo Horizonte : Itatiaia, 1973. 201p.

PINHO, F.M.; BURDMANN, E.A. Fatal cerebral hemorrhage and acute renal failure after young *Bothrops jararacussu* snake bite. **Ren. Fail.** New York, v.23, n.2, p. 269-277, 2001.

PRATT, P.W. **Laboratory procedures for veterinarians technicians**. Missouri : Mosby, 1997. 660 p.

QUEIROZ, L.S.; SANTO-NETO, H.; ASSAKURA, M.T.; REICHL, A.P.; MANDELBAUM, F.R. Pathological changes in muscle caused by haemorrhagic and proteolytic factors from *Bothrops jararaca* snake venom. **Toxicon**, Oxford, v. 23, n. 2, p. 341-345, 1985.

RAWAT, S. A new antivenom to treat eastern coral snake (*Micrurus fulvius fulvius*) envenoming. **Toxicon**, Oxford, v. 32, p. 185-190, 1994.

REZENDE, N.A.; AMARAL, C.F.; BAMBIRRA, E.A.; LACHATT, J.J.; COIMBRA, T.M. Funcional and histopathological renal changes induced in rats by *Bothrops jararaca* venom. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 3, p. 407-416, 1989.

RIBEIRO, L.A. Estudo epidemiológico de acidentes por serpentes no Estado de São Paulo, atendidos no Hospital Vital Brasil, 1988. 1991. Dissertação Mestrado – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

RIBEIRO, L.A.; JORGE, M.T. Acidentes por serpentes do gênero *Bothrops*: série de 3.139 casos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Brasília, v. 30, n. 6, p. 475-480, 1997.

RIBEIRO, L.A.; JORGE, M.T.; LEBRAO, M.L. Prognostic factors for local necrosis in *Bothrops jararaca* (Brazilian pit viper) bites. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, London, v.95, n.6, p. 630-634, 2001.

ROBERSON, E.L. Drogas usadas contra nematódeos In_____ BOOTH, N.H.; McDONALD, L.E. **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. 6. ed Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1992. p. 741.

ROBEVA, A.; POLITI, V.; SHANNON, J.D.; BJARNASON, J.B.; FOX, J.W. Synthetic endogenous inhibitors of snake venom metalloproteinases. **Biomed. Biochim. Acta**, v. 50, p. 769-773, 1991.

ROGERO, J.R.; NASCIMENTO, N. Atenuação da toxicidade de venenos ofídicos por meio da radiação ionizante. **Biotechnol. Cien. Desenvolv.**, Brasília, v.1, p. 24-26, 1997.

ROGERO, J.R.; NASCIMENTO, N. Detoxification of snake venom using ionizing radiation. **J. Venom Anim. Toxins**, Botucatu, v. 1, p. 7-10, 1995.

ROSENFELD, G. Acidentes por animais peçonhentos. In_____ VERONESI, R. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8. ed Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1991, p. 951-962.

ROSENFELD, G.; HAMPE, O.G.; KELEN, E.M.A. Coagulant and fibrinolytic activity of animal venoms: determination of coagulant and fibrinolytic index of different species. **Mem. Inst. Butantan**, São Paulo, v. 29, p. 143-163, 1959.

- ROSENFELD, G.; NAHAS, L.; FLEURY, C.T. envenenamentos por serpentes, aranhas e escorpiões. In_____ PRADO, F.C.; RAMOS, J.A.; VALLE, J.R. **Atualização terapêutica**. 8. ed. São Paulo : Artes Médicas, 1970 p. 984-992.
- RUSSELL, F.E. **Snake venom poisoning**. New York : Scholium International, 1983. p. 139-344.
- RUSSELL, F.E.; LAURITZEN, L. Antivenins. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** London, v. 60, p. 797-801, 1966.
- RUSSELL, F.E.; TIMMERMAN, W.F.; MEADOWS, P.E. Clinical use of antivenin prepared from goat serum. **Toxicon**, Oxford, v. 8, p. 63-65, 1970.
- SALAFRANCA, E.S. Detoxification of cobra venom and bacterial toxins for biological production. **I.A.E.A.**, v. 334, p.87-94, 1972.
- SALAFRANCA, E.S. Irradiated cobra (*Naja naja philippinensis*) venom. **Int. J. Appl. Radiat. Isot.**, New York, v.24, p. 60, 1973.
- SANO-MARTINS, I.S.; SANTORO, M.L.; MORENA, P.; SOUZA E SILVA, M.C.C.; TOMY, S.C.; ANTONIO, L.C.; NISHIKAWA, A.K.; GONÇALVES, I.L.C.; LARSSON, M.H.A.; HAGIWARA, M.K.; KAMIGUTI, A.S. Hematological changes induced by *Bothrops jararaca* venom in dogs. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 28, p. 303-312, 1995.
- SAZIMA, I. Um estudo de biologia comportamental da jararaca, *bothrops jararaca*, com uso de marcas naturais. **Mem. Ins. Butantan**, São Paulo, v. 50, n. 3, p. 83-99, 1983.

SILVA, R.J.; SILVA, M.G.; VILELA, L.C.; FECCHIO, D. Antitumor effect of Bothrops jararaca venom. **Mediators Inflammation**, Oxford, v.11, n.2, p. 99-104, 2002a.

SILVA, R.J.; SILVA, M.G.; VILELA, L.C.; FECCHIO, D. Cytokine profile of Ehrlich ascites tumor treated with Bothrops jararaca venom. **Mediators Inflammation**, Oxford, v. 11, n.4, p. 197-201, 2002b.

SJOSTROM, L. A comparison of ovine and equine antivenoms. **Toxicon**, Oxford, v.32, p. 427-433, 1994.

SOERENSEN, B. Produção de soros anti-peçonhentos e características imunológicas de cada soro. Anavenenos. In: _____ **Animais Peçonhentos**. Rio de Janeiro: Atheneu. 1990, p. 91-107.

SOUZA, F.A.; SPENCER, P.J.; ROGERO, J.R.; NASCIMENTO, N.; DAL PAI-SILVA, M.; GALLACCI, M. ⁶⁰Co gamma irradiation prevents Bothrops jararacussu venom neurotoxicity and myotoxicity in isolated mouse neuromuscular junction. **Toxicon**. Oxford, v.40(8), p. 1101-1106, 2002.

SOUZA-FILHO, M.C. Detoxification of the crotoxin complex by gamma radiation. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 25, p. 103-113, 1992.

TANIGAWA, M.; MARUYAMA, M.; SUGIKI, M.; SHIMAYA, K.; ANAI, K.; MIHARA, H. Clearance and distribution of a haemorrhagic factor purified from *Bothrops jararaca* venom in mice. **Toxicon**, Oxford, v. 32, n. 5, p. 583-593, 1993.

TORRES, A.P.; JARDIM, W.R. **Criação de cavalos e de outros equinos: 3**. Ed. São Paulo : Nobel, 1987. 457p.

USAMI, Y.; FUGIMURA, Y.; MIURA, S.; SHIMA, H.; YOSHIDA, A.; YOSHIOKA, A.; HIRANO, K.; SUZUKI, M.; TITANI, K. A 28 kDA-protein with disitegrin-like structure (jararhagin-C) purified from *Bothrops jararaca* venom inhibits collagen and ADP-induced platelet aggregation. **Biochem. Biophys Res. Commun.**, Orlando, v. 201, n. 1, p. 331-339, 1994.

USAMI, Y.; FUJIMURA, Y.; SUZUKI, M.; OZEKI, Y.; NISHIO, K.; FUKUI, H.; TITANI, K. Primary structure of two-chain botrocetin, a von Willebrand factor modulator purified from the venom of *Bothrops Jararaca*. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, Washington, v. 90, n.3, p.928-932, 1993.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. 2 ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1984. 718 p.

ZINGALI, R.B.; CARLINI, C.R.; FRANCISCHETTI, I.M.; GUIMARÃES, J.A. *Bothrops jararaca* venom: effects on platelet aggregation. **Thromb. Res.**, Stuttgart, v. 58, n. 3, p. 303-316, 1990.

ZINGALI, R.B.; FRANCISCHETTI, I.M.; CARLINI, C.R.; GUIMARÃES, J.A. Biochemical and pharmacological screening of snake (*Bothrops*) venoms: caracterization of components acting on blood coagulation and platelet aggregation. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 21, p. 763-765, 1988.

ZINGALI, R.B.; JANDROT-PERRUS, M.; GUILLIN, M.C.; BON, C. Bothrojaracin, a new thrombin inhibitor isolated from *Bothrops jararaca* venom: characterization and mechanism of thrombin inhibition. **Biochemistry**, Washington, v. 32, n. 40, p. 10794-10802, 1993.

Apêndice 2. Ficha individual para coleta de dados laboratoriais

Avaliação da influência da irradiação, em bomba de Cobalto 60, na evolução clínica e laboratorial de caprinos intoxicados por veneno botrópico (*Bothrops jararaca*)

IDENTIFICAÇÃO: N^o _____ **SEXO** _____ **PESO** _____ **GRUPO** _____ **DOSE DE VENENO** _____

PARÂMETROS	COLETAS DE DADOS				
	ANTES DA INOCULAÇÃO	1 ^o DIA PÓS INOCULAÇÃO	2 ^o DIA PÓS INOCULAÇÃO	7 ^o DIA PÓS INOCULAÇÃO	30 ^o DIA PÓS INOCULAÇÃO
TEMPO DE COAGULAÇÃO					
HEMÁCEAS					
HEMOGLOBINA					
LEUCÓCITOS					
BASTONETES					
NEUTRÓFILOS					
LINFÓCITOS					
EOSINÓFILOS					
BASÓFILOS					
MONÓCITOS					
PLAQUETAS					
ÚREA					
CREATININA					
CK					
AST					
ASL					
TEMPO DE COAGULAÇÃO					
CONTAGEM DE PLAQUETAS					
IMUNOGLOBULINAS					

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Elza Numata

Oliveira, Pedro Carlos Lucas de.

Estudo comparativo do veneno botrópico (*Bothrops jararaca*) nativo e irradiado com ^{60}Co em caprinos. Aspectos clínicos e laboratoriais/ Pedro Carlos Lucas de Oliveira. – 2003.

Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

Orientadora: Michiko Sakate
Assunto CAPES: 50501089

1. Toxicologia veterinária

CDD 636.08915

Palavras-chave: Irradiação; Botrópico; *Bothrops jararaca*; Cobalto; Caprino