UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Aspectos clínico, laboratorial e histopatológico da intoxicação experimental pelos venenos das serpentes Bothrops jararaca e Crotalus durissus terrificus em ratos Wistar tratados com antiveneno e Mikania glomerata.

YUDNEY PEREIRA DA MOTTA

Botucatu – SP
2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Aspectos clínico, laboratorial e histopatológico da intoxicação experimental pelos venenos das serpentes Bothrops jararaca e Crotalus durissus terrificus em ratos Wistar tratados com antiveneno e Mikania glomerata.

YUDNEY PEREIRA DA MOTTA

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Ass. Dra. Michiko Sakate

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Motta, Yudney Pereira da.
Aspectos clínico, laboratorial e histopatológico da intoxicação experimental pelos venenos das serpentes Bothrops jararaca e Crotalus durissus terrificus em ratos Witar tratados com antiveneno e Mikania glomerata / Yudney Pereira da Motta. – Botucatu : [s.n.], 2008

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2008.
Orientadora: Michiko Sakate
Assunto CAPES: 50501089

1. Toxicologia veterinária - Estudos experimentais 2. Serpentes - Veneno

CDD 636.08959

Palavras-chave: Botrhops jararaca; Crotalus durissus terrificus; Intoxicação experimental; Mikania glomerata; Ratos Wistar

Nome do Autor: Yudney Pereira da Motta

Título: ASPECTOS CLÍNICO, LABORATORIAL E HISTOPATOLÓGICO DA INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL PELOS VENENOS DAS SERPENTES Bothrops jararaca E Crotalus durissus terrificus EM RATOS WISTAR TRATADOS COM ANTIVENENO E Mikania glomerata.

COMISSÃO EXAMINADORA

Professora Assistente Doutora Michiko Sakate
Presidente e Orientadora
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP - Botucatu

Professora Assistente Doutora Regina Kiomi Takahira
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP - Botucatu

Professor Doutora Rosa Maria Barilli Nogueira
Membro
Departamento de Clínica Medica Veterinária
FCA – UNOESTE – Presidente Prudente

Data da Defesa: 27 de junho de 2008.

Dedico este trabalho a meu pai Deraldo Pereira da Motta e minha mãe Maria Neide Franzini da Motta, minhas primeiras e maiores referências.

Aquele que duvida e não investiga torna-se não só infeliz, mas também injusto.

Blaise Pascal (1923 – 1962)

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por ter me dado saúde, coragem e por ter colocado pessoas maravilhosas, na minha vida, que me ajudaram a seguir o meu caminho e superar todas as dificuldades.

À minha mãe pelo amor incondicional e incentivo em todos os dias da minha vida.

A meu pai que pelos puxões de orelha me fez um homem de caráter e me incentivou a chegar aqui.

À minha noiva pelo carinho e compreensão dados a mim, que me ajudaram a concluir mais esta etapa na minha vida e pelo maior presente que alguém possa receber.

Ao meu filho João Gabriel que mesmo ainda sendo uma semente já é muito amado.

Aos meus irmãos que com seus exemplos de vida me ajudaram a ser mais forte e a superar as dificuldades.

À Prof.ª Ass. Dr.ª Michiko Sakate pelo exemplo profissional, confiança, orientação e bom humor constante.

À Profª. Drª. Rosa Maria Barilli Nogueira pela amizade, incentivo, confiança e atenção dispensada em todos os momentos da realização deste trabalho.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu, pela oportunidade concedida para a realização do curso.

À seção de pós-graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu, em especial aos funcionários Denise A. Fioravante Garcia , Maria Aparecida Dias de Almeida Manoel e José Roberto de Lalla Júnior.

À Universidade do Oeste Paulista pela ajuda financeira para realização da presente pesquisa.

Ao Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP) de Botucatu, pela doação dos venenos das serpentes Bothrops jararaca e Crotalus durissus terrificus.

Aos companheiros de experimento Fabíola e Rafael, pela convivência, dedicação, amizade e troca de experiência.

À Profa. Regina Takahira, pelos ensinamentos e por fazer parte da minha banca de mestrado.

Às Profas. Sílvia Franco Andrade, Alessandra Melchert e Adriana Falco de Brito pelo incentivo à realização deste curso de Mestrado.

Aos amigos Hugo, Cristiane Moraes, Karina, Annelise, Roberto Bolsanello e Camila pela amizade, incentivo e convivência.

Aos amigos da república Fazendinha, Bruno Martins (Pança), Bruno (23), Hugo (Tandy), Marco (pexera), Sagat e Loser pela convivência e apoio.

Aos funcionários do Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da Universidade do Oeste Paulista, pela realização dos exames laboratoriais e em especial a Dra. Cecília Braga Laposy e Ana Maria Siqueira Junqueira.

Aos funcionários do serviço de Patologia da UNOESTE, em especial ao Prof. Dr. Osimar Sanches, pelos esclarecimentos e leitura das lâminas de histopatologia.

Aos funcionários do Biotério Central da Universidade do Oeste Paulista-UNOESTE pela ajuda na realização deste experimento.

Aos alunos da UNOESTE, em especial Rosimery e Heloisa pelo auxílio e dedicação durante a realização deste trabalho.

Aos funcionários da Divisão de Biblioteca e Documentação da UNESP – Campus de Botucatu, em especial Selma Maria de Jesus, pela presteza no atendimento e pela orientação quanto às bibliografia e confecção da ficha catalográfica.

À Cristininha e Marlene, secretarias do departamento de Clínica Veterinária da FMVZ – Unesp/Botucatu, pela amizade a mim dedicada.

À Luciana Pizzani e à Rosemary Cristina da Silva, funcionárias da Divisão de Biblioteca e Documentação da UNESP - Botucatu, pela orientação e correções das referências.

A todos os amigos e colegas da pós-graduação da FMVZ-UNESP – Botucatu, pela solidariedade e atenção.

À CAPES, pelo auxilio financeiro durante o meu mestrado.

Aos ratos de experimentação, que são sacrificados em benefício da ciência e de outros animais.

Aos animais, minha grande paixão, sem eles nada disso teria propósito!

A todos que contribuíram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Número de acidentes ofídicos, óbito e índice de letalidade no Brasil em 2005 (BRASIL, 2006).....	11
Tabela 2	Valores das médias e desvio padrão de temperatura (°C) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após inoculação do veneno botrópico, em ratos.....	53
Tabela 3	Valores das médias e desvio padrão de freqüência respiratória (mpm) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.....	54
Tabela 4	Valores das médias e desvio padrão de freqüência cardíaca (bpm) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.....	56
Tabela 5	Valores das médias e desvio padrão de edema de membro direito (cm) e comparação das médias pelo teste de Tukey, em ratos	57
Tabela 6	Valores das médias e desvio padrão de edema de membro esquerdo (EDME) (cm) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.....	59
Tabela 7	Valores médios e desvio padrão de uréia (mg/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.....	63
Tabela 8	Valores médios e desvio padrão de creatinina (mg/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.....	65
Tabela 9	Valores médios e desvio padrão de Creatina quinase (CK) (UI/L) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após inoculação do veneno botrópico, em ratos..	66

Tabela 10 Valores médios e desvio padrão de hemácias (/μL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos..... 68

Tabela 11 Valores médios e desvio padrão de hemoglobina (g/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos..... 70

Tabela 12 Valores médios e desvio padrão do volume globular (VG) (%) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos..... 72

Tabela 13 Valores médios e desvio padrão de leucócitos (/μL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos..... 73

Tabela 14 Valores médios e desvio padrão de neutrófilos (/μL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após inoculação do veneno botrópico, em ratos..... 75

Tabela 15 Valores médios e desvio padrão de linfócitos (/μL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos..... 77

Tabela 16 Valores médios e desvio padrão de proteína plasmática total (PPT) (g/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após inoculação do veneno botrópico, em ratos..... 78

Tabela 17 Valores médios e desvio padrão de fibrinogênio (mg/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos..... 80

Tabela 18 Valores médios e desvio padrão de temperatura (°C) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 86

Tabela 19 Valores médios e desvio padrão de freqüência respiratória (mpm) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 87

Tabela 20 Valores médios e desvio padrão de freqüência cardíaca (bpm) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 89

Tabela 21 Valores médios e desvio padrão de edema (cm) de membro direito (EDMD) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 90

Tabela 22 Valores médios e desvio padrão de edema de membro esquerdo (EDME) (cm) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 92

Tabela 23 Valores médios e desvio padrão de uréia (mg/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 95

Tabela 24 Valores médios e desvio padrão de creatinina (mg/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 96

Tabela 25 Valores médios e desvio padrão de Creatinoquinase (CK) (UI/L) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 98

Tabela 26 Valores médios e desvio padrão do número de hemácias (/µL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 100

Tabela 27 Valores médios e desvio padrão de hemoglobina (g/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 101

Tabela 28 Valores médios e desvio padrão de volume globular (VG) (%) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 103

Tabela 29 Valores médios e desvio padrão do número de leucócitos (/µL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 104

Tabela 30 Valores médios e desvio padrão do número de neutrófilos (/µL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 106

Tabela 31 Valores médios e desvio padrão do número de linfócitos (/µL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 107

Tabela 32 Valores médios e desvio padrão de proteína plasmática total (PPT) (g/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 109

Tabela 33 Valores médios e desvio padrão de fibrinogênio (mg/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos..... 110

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 Casos de acidentes por serpentes peçonhentas no Brasil (SVS, 2006)..... 10

Quadro 2 Acidente Botrópico - Classificação quanto à gravidade e soroterapia recomendada (BRASIL, 2001)..... 29

Quadro 3 Acidente Crotálico - classificação quanto à gravidade e soroterapia recomendada (BRASIL, 2001)..... 30

Quadro 4 Número de animais que apresentaram lesões histológicas na musculatura no momento M3, em ratos inoculados com veneno da serpente Bothrops jararaca..... 81

Quadro 5 Número de animais que apresentaram lesões histológicas renais no momento M3, em ratos inoculados com veneno da serpente Bothrops jararaca..... 84

Quadro 6 Número de animais que apresentaram lesões histológicas na musculatura no momento M3, em ratos inoculados com veneno da serpente Crotalus durissus terrificus..... 112

Quadro 7 Número de animais que apresentaram lesões histológicas renais no momento M3, em ratos inoculados com veneno da serpente Crotalus durissus terrificus..... 114

Quadro 8 Valores individuais da Temperatura (°C) dos ratos dos grupos G1VB, G2VB e G3VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico... 166

Quadro 9 Valores individuais da freqüência respiratória (mpm) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico..... 166

Quadro 10 Valores individuais da freqüência cardíaca (bpm) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico..... 167
Quadro 11 Valores individuais do edema de membro direito (cm) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos..... 167
Quadro 12 Valores individuais do edema de membro esquerdo (cm) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico..... 168
Quadro 13 Valores individuais da uréia (mg/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico.. 168
Quadro 14 Valores individuais da creatinina (mg/dL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico... 169
Quadro 15 Valores individuais da creatinoquinase (mg/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico..... 169
Quadro 16 Valores individuais do número de hemácias (/µL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos..... 170
Quadro 17 Valores individuais da hemoglobina (g/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico.. 170
Quadro 18 Valores individuais do volume globular (%) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico..... 171

Quadro 19 Valores individuais do número de leucócitos (/µL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico..... 171
Quadro 20 Valores individuais do número de neutrófilos (/µL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico..... 172
Quadro 21 Valores individuais do número de linfócitos (/µL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico..... 172
Quadro 22 Valores individuais da proteína plasmática total (g/dL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico..... 173
Quadro 23 Valores individuais do número do fibrinogênio (mg/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico..... 173
Quadro 24 Valores individuais da Temperatura (°C) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.... 174
Quadro 25 Valores individuais da freqüência respiratória (mpm) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico..... 174
Quadro 26 Valores individuais da freqüência cardíaca (bpm) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico..... 175

Quadro 27 Valores individuais do edema de membro direito (cm) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos..... 175
Quadro 28 Valores individuais do edema de membro esquerdo (cm) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico..... 176
Quadro 29 Valores individuais da uréia (mg/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico... 176
Quadro 30 Valores individuais da creatinina (mg/dL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico..... 177
Quadro 31 Valores individuais da creatinoquinase (mg/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico..... 177
Quadro 32 Valores individuais do número de hemácias (/µL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico..... 178
Quadro 33 Valores individuais da hemoglobina (g/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico... 178
Quadro 34 Valores individuais do volume globular (%) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico..... 179
Quadro 35 Valores individuais do número de leucócitos (/µL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico..... 179

Quadro 36 Valores individuais do número de neutrófilos (/µL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico..... 180

Quadro 37 Valores individuais do número de linfócitos (/µL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico..... 180

Quadro 38 Valores individuais da proteína plasmática total (g/dL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico..... 181

Quadro 39 Valores individuais do número do fibrinogênio (mg/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico..... 181

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Serpente do gênero Crotalus, mostrando a presença de fosseta loreal, globo ocular pequeno e olhos em fenda. (Jofre Oliveira)..... 08

Figura 2 Serpente Crotalus durissus collilineatus, presença de guizo, característico nessa espécie. (Jofre Oliveira)..... 08

Figura 3 Gaiolas metabólicas..... 42

Figura 4 Venenos de Bothrops jararaca e Crotalus durissus terrificus cedidos pelo CEVAP- UNESP-Botucuatu..... 45

Figura 5 Soro antiofídico (botrópico-crotálico)..... 45

Figura 6 Colheita de sangue por cardiocentese..... 47

Figura 7 Aplicação do anestésico (Tiopental)..... 49

Figura 8 Animal apresentando cromodacríorréia..... 52

Figura 9 Diferentes momentos de avaliação, do edema de membro esquerdo, após a inoculação do veneno botrópico em rato Wistar..... 61

.Figura 10 Necrose e hemorragia no membro esquerdo 6 horas após a inoculação do veneno botrópico..... 82

Figura 11 Lesões em musculatura do membro posterior esquerdo 24 horas após a inoculação do veneno botrópico. A – Necrose de coagulação, B –Hemorragia, C- Edema e D – Fibra muscular estriada sem alteração evidente (H&E, 20X.)..... 83

Figura 12 Lesões renal 24 horas após a inoculação do veneno botrópico. A – Hemorragia (H&E, 40x)..... 85

Figura 13 Animal apresentando grau de sedação moderado após 6 horas da inoculação do veneno..... 94

Figura 14 Lesões em musculatura do membro posterior esquerdo 24 horas após a inoculação do veneno crotálico. A – Degeneração e B – Edema (H&E, 20X.)..... 113
Figura 15 Lesões renal 24 horas após a inoculação do veneno crotálico. A – Degeneração hidrópica renal (H&E, 40x)..... 115
Figura 16 Lesões renal 24 horas após a inoculação do veneno crotálico. A – Necrose tubular aguda (H&E, 40x)..... 115

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Casos de acidentes por serpentes peçonhentas (SVS, 2006)..... 11

Gráfico 2 Valores das médias da temperatura (°C) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico..... 53

Gráfico 3 Valores das médias da freqüência respiratória (mpm) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico..... 55

Gráfico 4 Valores das médias da freqüência cardíaca (bpm) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico..... 56

Gráfico 5 Valores das médias do EDMD (cm) dos ratos em diferentes momentos..... 58

Gráfico 6 Valores das médias do EDME (cm) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico..... 60

Gráfico 7 Valores das médias da uréia (mg/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico..... 63

Gráfico 8 Valores das médias da creatinina (mg/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico..... 65

Gráfico 9 Valores das médias da CK (UI/L) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico..... 67

Gráfico 10 Valores das médias das hemácias (/μL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico..... 69

Gráfico 11 Valores das médias da hemoglobina (g/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico..... 71

Gráfico 12 Valores das médias do volume globular (%) dos ratos em diferentes momentos após inoculação, do veneno botrópico..... 72
Gráfico 13 Valores das médias dos leucócitos (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação, do veneno botrópico..... 74
Gráfico 14 Valores das médias dos neutrófilos (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico..... 75
Gráfico 15 Valores das médias dos linfócitos (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico..... 77
Gráfico 16 Valores das médias da PPT (g/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico..... 79
Gráfico 17 Valores das médias do fibrinogênio (mg/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico..... 80
Gráfico 18 Valores das médias da temperatura (°C) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.. 86
Gráfico 19 Valores das médias da freqüência respiratória (mpm) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico..... 88
Gráfico 20 Valores das médias da freqüência cardíaca (bpm) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico..... 89
Gráfico 21 Valores das médias do EDMD (cm) dos ratos em diferentes momentos 91
Gráfico 22 Valores das médias do EDME (cm) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico..... 92
Gráfico 23 Valores das médias da uréia (mg/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.. 95
Gráfico 24 Valores das médias da creatinina (mg/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.. 97

Gráfico 25 Valores das médias da CK (UI/L) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico..... 98
Gráfico 26 Valores das médias das hemácias (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.. 100
Gráfico 27 Valores das médias da hemoglobina (g/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.. 102
Gráfico 28 Valores das médias do volume globular (%) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.. 103
Gráfico 29 Valores das médias do número de leucócitos (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação..... 105
Gráfico 30 Valores das médias do número de neutrófilos (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico..... 106
Gráfico 31 Valores das médias do número de linfócitos (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico..... 108
Gráfico 32 Valores das médias da proteína plasmática total (PPT) (g/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico..... 109
Gráfico 33 Valores das médias do fibrinogênio (mg/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.. 111

ABREVIAÇÕES

%- porcento
cm- centímetro
dL- decilitro
et al- e colaboradores
g- grama
G1 - grupo controle
G2 - grupo veneno + soro antiofídico
G3 - grupo veneno + soro antiofídico + extrato aquoso de Mikania glomerata
h- hora
HV- Hospital Veterinário
IL - interleucina
kg - quilograma
L - litro
M1 – 30 minutos após inoculação
M2 – 6 horas após inoculação
M3 – 24 horas após inoculação
M - momento
mg - miligrama
mL - mililitro
PLA2 – fosfolipase A2
PPT – proteína plasmática total
UI - unidade internacional
VB - veneno botrópico
VC – veneno crotálico
μL – microlitro

SUMÁRIO

RESUMO xxviii

ABSTRACT xxix

1. INTRODUÇÃO..... 02
2. REVISÃO DE LITERATURA..... 06
   - 2.0 Características da serpente..... 06
   - 2.1 Acidente ofídico..... 08
   - 2.2 Composição do veneno botrópico..... 12
   - 2.3 Efeitos do veneno botrópico..... 13
     - 2.3.1 Efeitos locais..... 13
     - 2.3.2 Efeitos nefrotóxicos..... 14
     - 2.3.3 Efeito vasculotóxico..... 14
     - 2.3.4 Efeitos coagulantes e Hemolítico..... 15
     - 2.3.5 Efeitos hematológicos..... 16
     - 2.3.6 Achados anatopatológicos..... 17
   - 2.4 Composição do veneno crotálico..... 17
   - 2.5 Efeitos clínicos do veneno crotálico..... 19
     - 2.5.1 Efeitos miotóxicos do veneno crotálico..... 20
     - 2.5.2 Efeito nefrotóxico..... 21
     - 2.5.3 Efeito neurotóxico..... 23
     - 2.5.4 Efeitos coagulantes e hemolíticos..... 24
     - 2.5.5 Efeitos hepatotóxicos 24
     - 2.5.6 Efeitos hematológicos..... 25
     - 2.5.7 Achados anatomopatológicos..... 26
   - 2.6 Diagnóstico, tratamento e prognóstico dos acidentes botrópico e crotálico..... 28
3. OBJETIVOS..... 38
4. MATERIAL E MÉTODOS..... 41
   - 4.0 Local..... 41
   - 4.1 Animais..... 41
     - 4.1.1 Manejo dos animais..... 41
   - 4.2 Delineamento experimental..... 42

4.2.1 Grupos experimentais..... 42
4.2.2 Momentos..... 43
4.2.3 Avaliação clínica..... 43
4.2.4 Exames laboratoriais..... 44
4.2.5 Histopatologia..... 44
4.3 Inoculação do veneno e tratamento..... 45
4.4 Colheita de material..... 46
4.4.1 Sangue total..... 46
4.5 Exames laboratoriais..... 48
4.5.1 Hemograma..... 48
4.5.2 Exames bioquímicos..... 48
4.7Histopatologia..... 49
4.8 Análise estatística..... 50
5. RESULTADOS..... 52
5.0 Observações clínicas da intoxicação por veneno botrópico..... 52
5.0.1 Temperatura..... 52
5.0.2 Freqüência respiratória..... 54
5.0.3 Freqüência cardíaca..... 55
5.0.4 Edema de membro direito..... 57
5.0.5 Edema de membro esquerdo..... 59
5.0.6 Locomoção..... 61
5.0.7 Grau de sedação..... 61
5.0.8 Observação de coagulação..... 62
5.1 Observações laboratoriais do veneno botrópico..... 62
5.1.1 Uréia..... 62
5.1.2 Creatinina..... 64
5.1.3 Creatina quinase..... 66
5.1.4 Número de Hemácias..... 68
5.1.5 Hemoglobina..... 70
5.1.6 Volume globular..... 71
5.1.7 Número de leucócitos..... 73
5.1.8 Número de neutrófilos..... 74
5.1.9 Número de linfócitos..... 76

5.1.10 Proteina plasmática total..... 78
5.1.11 Fibrinogênio..... 79
5.2 Achados histopatológicos do veneno botrópico..... 81
5.2.1 Alterações musculares..... 81
5.2.2 Alterações renais..... 83
5.3 Observações clínicas da intoxicação por veneno crotálico..... 85
5.3.1 Temperatura..... 85
5.3.2 Freqüência respiratória..... 87
5.3.3 Freqüência cardíaca..... 88
5.3.4 Edema de membro direito..... 90
5.3.5 Edema de membro esquerdo..... 91
5.3.6 Locomoção..... 93
5.3.7 Grau de sedação..... 93
5.3.8 Observação de coagulação..... 94
5.4 Dados laboratoriais conseqüentes à intoxicação por veneno crotálico..... 94
5.4.1 Uréia..... 94
5.4.2 Creatinina..... 96
5.4.3 Creatinoquinase..... 97
5.4.4 Número de Hemácias..... 99
5.4.5 Hemoglobina..... 101
5.4.6 Volume globular..... 102
5.4.7 Número de leucócitos..... 104
5.4.8 Número de neutrófilos..... 105
5.4.9 Número de linfócitos..... 107
5.4.10 Proteina plasmática total..... 108
5.4.11 Fibrinogênio..... 110
5.5 Achados histopatológicos do veneno crotálico..... 111
5.5.1 Alterações musculares..... 111
5.5.2 Alterações renais..... 113
6. Discussão..... 117
6.0 Considerações iniciais..... 117
6.1 Avaliação clínica do veneno botrópico..... 117

6.1.1 Temperatura..... 118
6.1.2 Freqüência respiratória..... 118
6.1.3 Freqüência cardíaca..... 119
6.1.4 Edema de membro direito..... 119
6.1.5 Edema de membro esquerdo..... 119
6.1.6 Locomoção e grau de sedação..... 120
6.1.7 Observação de coagulação..... 121
6.2 Avaliações laboratoriais do veneno botrópico..... 121
6.2.1 Uréia e creatinina..... 121
6.2.2 Creatina quinase..... 122
6.2.3 Hemograma..... 123
6.2.4 Leucograma..... 124
6.3 Observação das alterações histopatológicas causadas por veneno botrópico..... 125
6.3.1 Alterações musculares..... 125
6.3.2 Alterações renais..... 126
6.4 Observações clínicas da intoxicação por veneno crotálico..... 128
6.4.1 Temperatura..... 128
6.4.2 Freqüências respiratória e cardíaca..... 128
6.4.3 Edema de membro direito..... 129
6.4.4 Edema de membro esquerdo..... 130
6.4.5 Locomoção e grau de sedação..... 130
6.4.6 Observação de coagulação..... 131
6.5 Observações laboratoriais do veneno crotálico..... 131
6.5.1 Uréia e creatinina..... 131
6.5.2 Creatina quinase..... 132
6.5.3 Hemograma..... 133
6.5.4 Leucograma..... 134
6.6 Observação das alterações histopatológicas causadas por veneno crotálico..... 134
6.6.1 Alterações musculares..... 134
6.6.2 Alterações renais..... 135
7. CONCLUSÕES..... 138

8. REFERÊNCIAS..... 141
ANEXOS..... 166
TRABALHO CIENTÍFICO..... 183

MOTTA, Y.P. Aspectos clínico, laboratorial e histopatológico da intoxicação experimental pelos venenos das serpentes Bothrops jararaca e Crotalus durissus terrificus em ratos Wistar tratados com antiveneno e Mikania glomerata. Botucatu, 2008, 238p. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Área de Clínica Veterinária – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, 2008. Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O presente trabalho avaliou os aspectos clínicos, laboratoriais e histopatológicos da intoxicação experimental por Bothrops jararaca e Crotalus durissus terrificus em ratos Wistar e comparou o tratamento entre soro antiofídico isolado e o soro antiofídico associado ao extrato de Mikania glomerata. Os ratos foram distribuídos em 2 grupos: VB – veneno botrópico e VC- veneno crotálico. Os grupos foram divididos em 3 subgrupos G1 (controle), G2 (veneno + soro antiofídico), G3 (veneno + soro antiofídico + extrato de Mikania glomerata). O veneno das serpentes (10mg/kg) foi inoculado, via intramuscular, na face lateral da coxa do membro posterior esquerdo. O soro antiofídico foi administrado via intraperitonial e o extrato de Mikania glomerata foi administrado por gavage. Os animais foram submetidos a avaliações clínicas, hematológicas e bioquímica sérica em 3 momentos: (M1) 30 minutos após inoculação, (M2) 6 horas após inoculação e (M3) 24 horas após inoculação. A histopatologia foi realizada somente no momento M3. Nos grupos VB e VC, foram observados hipotermia, edema de membro esquerdo, e no grupo VB, foram observadas incoagulabilidade sangüínea e diminuição nos valores de número de hemácias, hemoglobina, proteína plasmática total e volume globular. Nos dois grupos, houve aumento de leucócitos, neutrófilos e diminuição de linfócitos. Também foi observada elevação nos valores de uréia, creatinina e creatina quinase. Os achados histopatológicos incluem: degeneração, edema, congestão e hemorragias renais e musculares, necrose de coagulação, degeneração hidrópica renal e necrose tubular aguda. A principal ação da Mikania glomerata foi a redução ou prevenção de lesões musculares no veneno botrópico e a redução ou prevenção de lesões musculares e renais como observadas à histopatologia, nos animais do grupo crotálico.

Palavras-chave: Crotalus durissus terrificus, Bothrops jararaca, Mikania glomerata, ratos Wistar, intoxicação experimental

MOTTA,Y.P. Clinical, laboratorial and histopathologic aspects in the experimental intoxication with the venom of Bothrops jararaca and Crotalus durissus terrificus snakes in Wistar rats treated with antivenin and Mikania glomerata. Botucatu, 2008, 238p. Master´s Dissertation in Veterinary Medicine, area of Veterinary Clinic – School of Veterinary Medicine and Animal Husbandry. São Paulo State University – UNESP, Botucatu.

ABSTRACT

This study has evaluated clinical, laboratorial and histopathologic aspects of experimental poisoning by Bothrops jararaca and Crotalus durissus terrificus in Wistar rats and has compared the treatment between antiophidian serum and antiophidian serum plus the extract of Mikania glomerata. The rats were distributed in two groups: BV – Bothrops venom and CV - Crotalus venom. The groups were splited in 3 subgroups: G1 (control), G2 (venom + antivenon), G3 (venom + antivenin + extract of Mikania glomerata). The snake venoms (10mg/kg) were inoculated for via intramuscular, on a lateral face of the left posterior limb. The antivenin was applied intraperitoneal and the extract of Mikania glomerata was given by gavage. The animals were submitted to clinical and laboratory evaluations in 3 moments: (M1) 30 minutes after inoculation, (M2) 6 hours after inoculation and (M3) 24 hours after inoculation. Histopathology examination was performed only at M3. Rats from both groups (BV and CV) presented hypothermia, noticeable left limb edema. Also in the group BV, blood incoagulability and decrease in red blood cell counts, hemoglobin, total plasma protein and packed cell volume were detected. Both groups showed leukocytosis, neutrophilia and lymphopenia. It was also verified increases in urea, creatinine and creatine kinase. Degeneration, edema, congestion, kidney and muscle hemorrhages, coagulation necrosis, kidney hydropic degeneration and acute tubular necrosis were found on histopathologic results. The main effect of the extract of Mikania glomerata was to reduce or prevent muscle lesions for the Bothrops venom and to reduce or prevent muscle and kidney lesions as showed by histophalologic examination in animals from Crotalus group.

Key words: Crotalus durissus terrificus, Bothrops jararaca, Mikania glomerata, rats Wistar, experimental intoxicatio

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Os acidentes por animais peçonhentos constituem, em muitas partes do mundo, especialmente nas áreas rurais de países tropicais e subtropicais, problema de ordens médica, social e econômica (BARRAVIERA, 1994a).

O número de notificações de ofidismo vem aumentando ano a ano. Em 2003, por exemplo, foram registrados 25.478 acidentes, correspondendo à incidência de 15 casos por 100 mil habitantes. Verifica-se, no entanto, significativa variação por região, com coeficientes mais elevados nas regiões Norte e Centro-Oeste. Uma vez que nem sempre é possível identificar a serpente causadora do acidente, o diagnóstico específico de qual acidente ofídico é baseado em critérios clínicos e epidemiológicos.

Assim, dos quatro gêneros de serpentes peçonhentas, verifica-se o predomínio do acidente botrópico, que corresponde a 87,5% do total de acidente ofídico notificado no país, seguidos pelo crotálico (9,2%), laquético (2,7%) e elapídico (0,6%), com pequenas variações de acordo com a região e a distribuição geográficas das serpentes (BRASIL, 2005).

As serpentes Crotalus durissus terrificus e Bothrops jararaca são consideradas de grande importância tanto para seres humanos como em animais devido à gravidade do quadro clínico que causam, e na maioria das vezes fatal quando o tratamento com soro específico não é instituído precocemente (BARRAVIERA, 1990). É considerado de maior toxicidade o veneno das serpentes do gênero Crotalus em relação aos das diferentes serpentes do gênero Bothrops (BELLUOMINI, 1984).

Os venenos ofídicos são misturas extremamente complexas, constituídas, principalmente, por proteínas e peptídeos e em menores proporções carboidratos, lipídeos, aminoácidos e outros componentes orgânicos. (MEIER,1995).

O tratamento adequado de indivíduos acidentados por serpentes peçonhentas é um desafio que o homem tenta solucionar há muito tempo. Em 1894, Albert Calmette, Phisalix e Bertrand demonstraram a possibilidade de transferência de resistência de um animal imunizado para outro não imunizado, conferindo assim a proteção passiva contra peçonhas (HAWGOOD,1999).

As vacinas e soros são produtos de origem biológica (chamados imunobiológicos) usados na prevenção e tratamento de doenças. O soro contém os anticorpos necessários para combater uma determinada doença ou intoxicação, sendo assim, considerado curativo (VITAL BRAZIL, 1972).

Vital Brazil, médico sanitarista, residente em Botucatu no início do século 20, perante ao grande número de acidentes com serpentes peçonhentas no Brasil, passou a realizar estudos com os venenos ofídicos. Baseando-se nos primeiros dados experimentais obtidos pelo francês Albert Calmette, descobriu a especificidade do soro contra o veneno de serpentes, isto é, cada tipo de veneno ofídico requer um soro específico, preparado com o veneno do mesmo gênero de serpente que causou o acidente. Outra constatação por Vital Brazil foi a de que a quantidade do soro a ser utilizada deve ser proporcional à quantidade de veneno inoculada (Vital Brazil , 1966).

Em 1901, Vital Brazil fundou o Instituto Serumtherápico de Butantan, nome inicial do instituto Butantan em São Paulo, onde deu prosseguimento à preparação dos soros e iniciou a distribuição destes soros antiofídicos para todo território nacional.

A Organização Mundial de Saúde, em 1981, apresentou dados epidemiológicos relativos à incidência e à mortalidade provocadas por acidentes com animais peçonhentos, incluindo serpentes, aranhas e escorpiões. Na América do Sul, este trabalho mostrou que 90% dos acidentes foram causados por serpentes do gênero Bothrops e estimou a mortalidade em 2,4% nos pacientes tratados e em até 8% quando não é aplicado o antiveneno. O acidente por Crotalus durissus provocou morte em 74% dos pacientes não tratados, chegando esta a 12%, mesmo naqueles tratados (PINHO & PEREIRA, 2001).

Os acidentes ofídicos representam uma emergência médica e sempre requerem cuidados urgentes. Atualmente, o único tratamento cientificamente comprovado é a soroterapia especifica, mas este ainda apresenta algumas desvantagens e por isso novos estudos são necessários para identificar novas combinações que possam ser úteis como terapia alternativa ou terapia complementar nos acidentes ofídicos (SOARES et al., 2005).

Extratos vegetais, como os extratos de Mikania glomerata, constituem uma alternativa para tratamento, pois exibem uma diversidade grande de combinações químicas com várias atividades farmacológicas de interesse médico-científico. Um número grande de extratos mostrou boas atividades antivenenos (SOARES et al., 2004).

Revisão de literatura

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARACTERÍSTICAS DA SERPENTE

As serpentes fazem parte de um grupo de répteis que, segundo Bellairs e Underwood (1951), surgiram como formas aquáticas e em seguida emergiram para a terra. As serpentes são encontradas em quase todo o globo terrestre sendo mais freqüentes nas regiões tropicais e sub-tropicais por serem pecilotérmicas (JIM & SAKATE, 1994)

As serpentes podem ser aquáticas ou terrestres, existindo ainda espécies anfíbias. Entre as terrestres, há aquelas que vivem sobre árvores (dendrícolas), as que habitam a superfície do solo e as de vida subterrânea. Das que vivem sobre o solo, ganham destaque as dos grupos crotálico, botrópico e laquético. Deve se assinalar que as do grupo botrópico podem ser eventualmente encontradas em árvores. Os ofídios peçonhentos são mais encontrados nos campos ou em áreas cultivadas do que no interior de florestas, nas quais há escassez de pequenos roedores, especialmente ratos. De modo geral, pode-se dizer que as serpentes do grupo crotálico preferem locais mais secos e pedregosos, enquanto as do grupo botrópico ocorrem, com maior freqüência, em áreas mais úmidas, como banhados, beiras de rios e lagoas. Em nosso meio, constata-se um fenômeno bastante interessante. Nas matas ou áreas não-devastadas pelo homem, encontram-se aproximadamente 80 % de serpentes não-peçonhetas e 20 % de peçonhentas. Nas áreas dedicadas às atividades agropecuárias, ocorre uma inversão devida à presença de roedores, e registram-se nesses locais, 80 % de serpentes peçonhentas e 20 % de não-peçonhentas. As serpentes do grupo elapídico preferem vida subterrânea (TOKARNIA & PEIXOTO, 2006).

As serpentes do gênero Crotalus, encontradas no Brasil, apresentam características que são observadas também em outras serpentes peçonhentas da família Viperidae, como crânio triangular, globo ocular pequeno, pupila na forma de fenda e um par de fosseta loreal (Figura 1) situado entre as narinas e os olhos. A referida fosseta funciona como detector térmico muito sensível,

captando as vibrações do ar e por meio desse órgão, a serpente percebe a presença de sua presa (NOBLE & SCHMIDT, 1937). Possuem escamas na cabeça e dentição do tipo solenóglifo (JORGE & RIBEIRO, 1990; BARRAVIERA, 1994a). Possuem, na extremidade da cauda, guizo ou chocalho (Figura 2) característico em forma de gomos ou anéis que estão relacionados ao número de mudas de pele (BELLUOMINI, 1984).

As serpentes do gênero Crotalus (C) estão representadas, no Brasil, por uma única espécie, a Crotalus durissus (C.d.) e distribuídas em seis subespécies: Crotalus durissus terrificus, C. d. collilineatus (Figura 2), C. d. cascavella, C. d. ruruima, C. d. marajoensis e C. d. trigonicus (SAKATE, 2002).

A Crotalus durissus terrificus é encontrada desde o Rio Grande do Sul até Minas Gerais sendo conhecida popularmente como cascavel, cascavel-quatro-ventas, boicininga, maracambóia, maracá e outras denominações populares (SAKATE, 2002).

As serpentes do gênero Crotalus encontram-se, de modo geral, em campos abertos, áreas secas, arenosas e pedregosas, encostas de morro, cerrados e raramente na faixa litorânea ou nas florestas úmidas (JORGE & RIBEIRO, 1992; JIM & SAKATE, 1994).

O gênero Bothrops (B) compreende cerca de 30 espécies distribuídas por todo o território nacional. As espécies mais conhecidas são: B. pauloensis (neuwiedi) encontrada em todo o território nacional, exceto na região norte do país; B. jararaca distribuída na região sul e sudeste; B. jararacussu, encontrada no cerrado da região central e em florestas tropicais do sudeste e B. alternatus, distribuída ao sul e sudeste do país (BRASIL, 1998, WEN et al., 2002).

A ocorrência de incoagulabilidade sangüínea é mais comum em envenenamento causado pelas serpentes filhotes do gênero Bothrops. A ocorrência de acidentes por serpentes filhotes e incoagulabilidade são maiores no final do ano do que no inicio do ano, demonstrando assim uma associação positiva entre os acidentes nos últimos meses do ano e a ocorrência de incoagulabilidade sangüínea nos acidentados (OLIVEIRA et al, 2003).



Figura 1. Serpente do gênero Crotalus, mostrando a presença de fosseta loreal, globo ocular pequeno e olhos em fenda. (Jofre Oliveira)



Figura 2. Serpente Crotalus durissus collilineatus, presença de guizo, característico nessa espécie. (Jofre Oliveira)

Identificar o animal causador do acidente ofídico é procedimento importante na medida em que possibilita a dispensa imediata da maioria dos pacientes picados por serpentes não peçonhentas, viabiliza o reconhecimento das espécies de importância médica a nível regional e auxilia na escolha mais precisa do antiveneno a ser administrado (BRASIL, 1998).

2.2 ACIDENTE OFÍDICO

Existem, no mundo, aproximadamente 3000 espécies de serpentes, das quais 10 a 14% são consideradas peçonhentas. A Organização Mundial de Saúde (OMS) calcula que ocorram 1.250.000 a 1.665.000 acidentes com

serpentes peçonhentas por ano, com 30.000 a 40.000 mortes (Pinho & Pereira, 2001).

Atualmente, mais de 200 espécies de serpentes peçonhentas já foram identificadas. Elas estão classificadas em quatro principais famílias: Hydrophiidae, Elapidae, Viperidae e Crotalidae (MATSUI et al. 2000).

Quanto à epidemiologia em humanos, os acidentes ofídicos apresentam, no Brasil, um perfil constante nos últimos 100 anos. Os acidentes ofídicos apresentam sazonalidade, com maior freqüência no início e no final do ano. Há maior prevalência em pessoas do sexo masculino, trabalhadores rurais e na faixa etária produtiva de 15 a 45 anos. Os locais mais atingidos são os membros inferiores (BOCHNER & STRUCHINER 2003).

Entre os anos de 1988 a 1997, nos estados de São Paulo e Paraná, a incidência anual dos acidentes ofídicos variou de 4,32 a 10,57 casos por 100 mil habitantes, com queda ao longo do período, tanto dos acidentes botrópicos (88%) como dos crotálicos (11%). Os acidentes elapídicos foram raros (1%) em São Paulo e ausentes no Paraná. As áreas de maior risco para os acidentes foram coincidentes com as áreas de distribuição das serpentes, destacando-se, para os acidentes botrópicos, as regiões de Registro e Sorocaba em São Paulo e União da Vitória no sul do Paraná e, para os acidentes crotálicos, Bauru e Presidente Prudente em São Paulo, Cascavel e Ivaiporã no Paraná (WEN et al, 2002).

No Brasil, no período de janeiro de 1990 a dezembro de 1993, os acidentes ofídicos notificados ao Ministério da Saúde somaram 81.611 casos, o que representou uma média de 20.000 casos/ano. A maioria das notificações procedeu das regiões Sudeste e Sul. Das 81.611 notificações analisadas, 90,5% dos acidentes foram provocados por serpentes do gênero Bothrops, 7,7% do gênero Crotalus, 1,4% do gênero Lachesis e 0,4% do gênero Micrurus (BRASIL, 1998; 2001; 2005). A análise sobre a letalidade mostrou que o maior índice desta recai sobre acidentes crotálicos.

Na veterinária, encontram-se dados referentes à investigação e ao levantamento epidemiológico por parte de algumas Instituições brasileiras. Assim, em um estudo retrospectivo dos dados dos prontuários de atendimento no período de 1972 a 1989 junto ao Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP – Campus de Botucatu,

computaram-se 149 acidentes ofídicos, sendo 128 causados por Bothrops, 11 por Crotalus e 10 sem identificação. Dentre os acidentes, 103 ocorreram em cães, 22 em eqüinos, 17 em bovinos, quatro em caprinos, dois em felinos e um em suíno (BICUDO, 1994).

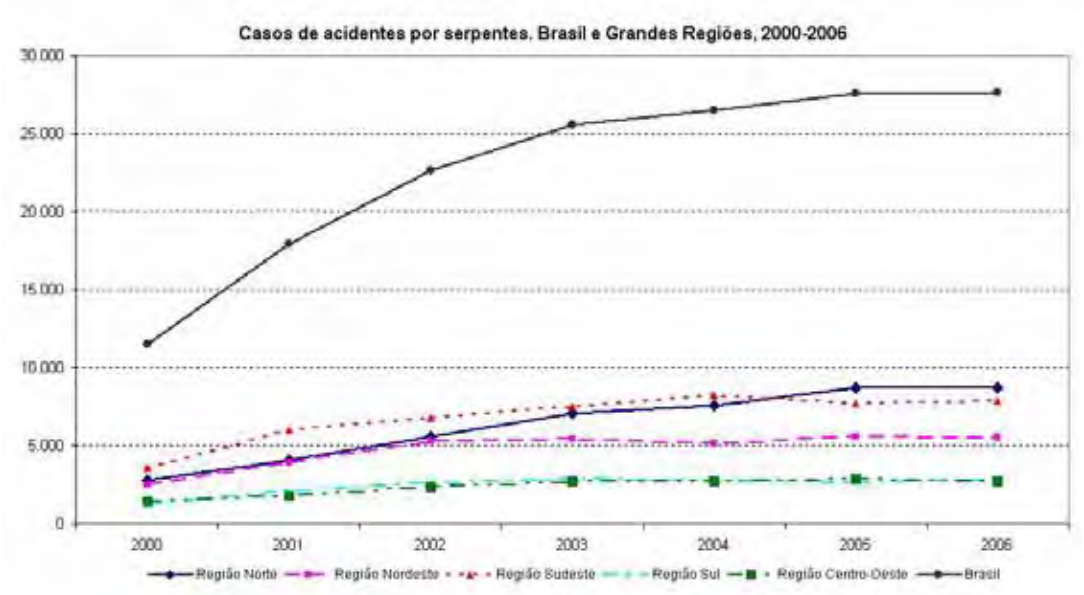
Desde 1986, o Ministério da Saúde tornou obrigatória a notificação dos acidentes ofídicos humanos, e com base nos índices observados desde então, a análise estatística revela que os acidentes crotálicos estão em segundo lugar quanto ao número de acidentes ocorrido, mas em primeiro lugar com relação ao índice de letalidade (BRASIL 2001; 2005).

O número de acidentes ofídicos no Brasil segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde vem aumentando, assim em 2003 foram 25.543 casos e no ano de 2006 foram 27.649 casos (Quadro 1 e Gráfico 1). (SVS, 2006).

QUADRO 1 – Casos de acidentes por serpentes peçonhentas em humanos no Brasil de 2000 a 2006 (SVS, 2006).

Região Norte	**2.775**	**4.087**	**5.542**	**7.051**	**7.587**	**8.745**	**8.690**
Rondônia	291	416	530	762	684	701	591
Acre	104	100	173	205	241	323	333
Amazonas	320	284	617	949	1.390	1.771	1.812
Roraima	14	37	119	91	180	279	436
Pará	1.632	2.736	3.299	4.118	4.108	4.613	4.523
Amapá	15	9	73	179	243	250	262
Tocantins	399	505	726	747	741	808	733
Região Nordeste	**2.470**	**3.958**	**5.314**	**5.438**	**5.175**	**5.582**	**5.524**
Maranhão	310	695	1.045	1.134	1.060	1.367	1.376
Piauí	141	159	175	174	193	238	268
Ceará	62	255	640	706	828	814	618
Rio Grande do Norte	88	171	237	318	445	402	307
Paraíba	57	89	245	274	308	485	538
Pernambuco	212	358	567	769	619	762	760
Alagoas	144	224	291	293	229	264	254
Sergipe	6	25	28	25	60	55	65
Bahia	1.756	2.674	3.111	2.679	2.493	2.532	2.728
Região Sudeste	**3.560**	**5.970**	**8.781**	**7.529**	**8.239**	**7.708**	**7.672**
Minas Gerais	395	2.983	3.552	4.003	4.406	3.899	4.341
Espírito Santo	998	898	1.050	890	1.238	1.082	1.037
Rio de Janeiro	340	406	369	530	549	587	627
São Paulo	1.824	1.683	1.810	2.106	2.044	2.040	1.667
Região Sul	**1.235**	**2.173**	**2.636**	**2.825**	**2.764**	**2.672**	**2.852**
Paraná	132	820	902	885	834	939	945
Santa Catarina	765	711	749	886	837	824	820
Rio Grande do Sul	338	642	985	1074	1093	909	1087
Região Centro-Oeste	**1.435**	**1.770**	**2.347**	**2.700**	**2.725**	**2.864**	**2.711**
Mato Grosso do Sul	251	256	295	396	506	483	465
Mato Grosso	64	475	760	927	1.066	1.153	1.169
Goiás	981	918	1.206	1.272	1.085	1.160	1.023
Distrito Federal	139	119	86	105	78	68	54
Brasil	**11.475**	**17958**	**22.620**	**25.543**	**26490**	**27541**	**27649**

GRÁFICO 1 – Casos de acidentes por serpentes peçonhentas em humanos no Brasil (SVS, 2006).



RIBEIRO & JORGE (1997) observaram que a porcentagem de óbitos nos acidentes por serpentes do gênero Bothrops tem um baixo índice (0,3%) no estado de São Paulo e em todo o Brasil (0,5%). Embora o óbito seja a conseqüência mais temida, a amputação ocorre com uma freqüência duas vezes maior que a de óbitos, sendo um evento bastante indesejável.

Na tabela 1, pode-se observar o número de casos, óbitos e índice de letalidade dos acidentes com os principais gêneros de serpentes peçonhentas do Brasil em 2005 com atualizações até julho de 2006 (SVS, 2006).

TABELA 1 – Número de acidentes ofídicos, óbito e índice de letalidade no Brasil em 2005 (SVS, 2006)

Acidentes	N° Casos	N° óbitos	Índice de letalidade (%)
Botrópico	19.453	76	0,40%
Crotálico	1.885	19	1%
Laquético	731	2	0,30%
Elapídico	149	0	0%

2.3 COMPOSIÇÃO DO VENENO BOTRÓPICO

A composição química das peçonhas é uma mistura extremamente complexa de proteínas farmacológica e bioquimicamente ativas e as lesões produzidas por estas dependem da natureza dos elementos desta mistura e da interação biológica de cada um deles com o organismo (DAL PAI & NETO, 1994).

O veneno da serpente do gênero Bothrops contém várias substâncias, e cerca de 90 a 95% do peso seco do veneno consistem de proteínas, componentes não protéicos inorgânicos e orgânicos e de enzimas. O veneno botrópico possui ações coagulante, proteolítica e vasculotóxica (OLIVEIRA et al, 2003). Assim, o veneno botrópico é uma mistura complexa de metaloproteinases (toxinas hemorrágicas - jararagina), fosfolipase A_2 (miotoxina), serino-proteases (enzimas tipo trombina) e peptídeos que agem sobre a bradicinina e o sistema angiotensina (ROSENFELD, 1971; CLISSA, 2002).

As proteases presentes no veneno botrópico parecem agir sobre a vitima de duas maneiras distintas: (1) degradando as proteínas teciduais da vítima, de maneira não especifica e (2) clivando proteínas plasmáticas de maneira relativamente específica, gerando compostos de potentes efeitos sobre a hemostasia do indivíduo (MATSUI et al., 2000).

A ação coagulante do veneno botrópico é conhecida como do “tipo trombina” onde ocorre consumo de fibrinogênio e afibrinogenemia além de ter a capacidade de ativar o fator X e a protrombina, da cascata de coagulação sangüínea. Ocorre também consumo de fatores V, VIII e plaquetas (AMARAL et al., 1988).

A ação necrosante ou proteolítica da peçonha botrópica decorre da ação citotóxica direta nos tecidos. A ação vasculotóxica causa a lesão no endotélio de vasos sangüíneos podendo provocar hemorragia local e/ou sistêmica. Clinicamente, podem ser observados hemorragia, edema no tecidual local e mionecrose, no animal acidentado por veneno botrópico (VIEIRA et al, 2004; SPADACCI-MORENA et al, 2006).

Araújo & Belluomini (1960-62) observaram que a dose de 1mg/kg de peso vivo dos venenos botrópico em animais domésticos e de laboratório, pode

ser letal, sendo que eqüinos, ovinos e bovinos foram os mais sensíveis, seguidos de forma decrescente pelos caprinos, caninos, coelhos, suínos, cobaios, camundongos, felinos e hamsters, além do rato que sobreviveu a todos os venenos. Este estudo também demonstrou o grau de toxicidade dos venenos, sendo em ordem decrescente: Crotalus durissus terrificus; Bothrops (B.) jararaca; B. jararacussu e B. alternatus; B. cotiara; B. pauloensis (neuwiedi) e B. atrox.

2.4 OS EFEITOS DO VENENO BOTRÓPICO

2.4.1 EFEITOS LOCAIS

O veneno botrópico, após a inoculação, promove ação citotóxica local, liberando substâncias farmacologicamente ativas (bradicinina, serotonina), além de mediadores da resposta inflamatória, agindo posteriormente em músculos e rins, não alcançando, neste ultimo órgão, concentrações maiores do que em músculos. Os efeitos clínicos causados pelo veneno incluem edema, eritema, petéquias, dor, pústulas, equimoses, bolhas e hemorragias e necrose local (CASTRO, 2006).

Dos três tipos de ações principais do veneno botrópico, a atividade “Proteolítica” é de importância fundamental para a caracterização clínica do acidente. Causada por frações bioquimicamente heterogêneas, com especificidades diversas que atuam de maneira complexa e interrelacionada, a chamada atividade proteolítica se constitui em atividade inflamatória aguda, responsável pelas alterações que ocorrem no local da picada e proximidade. A dor costuma ser imediata e de intensidade variável no local da inoculação do veneno, estendendo-se para todo o membro nas horas seguintes. O eritema e o edema locais, flogístico e endurado, podem-se tornar regional e atingir a raiz do membro. Equimoses, bolhas e necrose podem aparecer em horas, dependendo da gravidade do envenenamento (AZEVEDO-MARQUES et al., 2003).

2.4.2 EFEITOS NEFROTÓXICOS

O veneno botrópico pode causar alterações funcionais renais, como diminuição da filtração glomerular, da diurese e do fluxo plasmático renal, em ratos. A diminuição dos níveis de fibrinogênio e hematócrito e a presença de hemólise intravascular são bem marcantes. O aumento do lactato desidrigenase (LDH) plasmático e da hemoglobina livre também é observado, ficando evidenciada a deposição massiva de fibrina nos capilares glomerulares e da hemólise intravascular como os fatores mais importantes na etiopatogenia da insuficiência renal aguda (IRA) por acidente botrópico (BURDMANN et al., 1993; BOER-LIMA et al., 1999).

A ação proteolítica e a atividade da fosfolipase A2 do veneno botrópico podem ser responsáveis por muitos dos efeitos deletérios no epitélio renal. A atividade proteolítica do veneno pode ter importante efeito citotóxico em muitos tipos celulares, e pode contribuir diretamente ou indiretamente para a nefrotoxidade do veneno em ratos (BOER-LIMA et al., 1999).

Koscinczuk et al. (2007) observaram, em seu estudo, que a presença prematura de mioglobina na luz dos túbulos contorcidos, alça de Henle e túbulos coletores, associada às manifestações degenerativas e necróticas, indicam a participação deste pigmento na instalação de danos renais provocada pelo veneno de Bothrops pauloensis (neuwiedii).

2.4.3 EFEITO VASCULOTÓXICO

O evento hemorrágico ocorre pela ação direta do veneno botrópico sobre a parede dos vasos, causando desde um aumento na permeabilidade – pela destruição da membrana basal – até a sua ruptura provocando o sangramento. A hemorragia é dependente da concentração de veneno inoculada, podendo ocorrer até mesmo distalmente do local da picada. As frações hemorrágicas foram identificadas e denominadas de hemorraginas (CASTRO, 2006, FARSKY et al. 1999).

No que se refere à degradação enzimática da membrana basal, sabe-se que as toxinas hemorrágicas, em geral, representadas pelas metaloproteinases, possuem uma afinidade especifica por proteínas presentes

na matriz extracelular, como por exemplo, o colágeno tipo IV e a laminina, e os degradam (RUCAVADO et al, 1995). A destruição da membrana basal e da matriz extracelular provoca um conseqüente descolamento e lise das células endoteliais dos capilares, resultando na morte destas células e no extravasamento de plasma e de células sangüíneas para o tecido conectivo, caracterizado como hemorragia per rhexis (GUTIÉRREZ & RUCAVADO, 2000). A prevalência de complicações cerebrovascular nos acidentes por Bothrops spp. é de 2,6%. Hemorragias intracranianas são mais freqüentes que infartos cerebrais. O prognóstico para pacientes com estas complicações é reservado (MOSQUEIRA et al. 2003).

2.4.4 EFEITOS COAGULANTES E HEMOLÍTICOS

As alterações hemostáticas encontradas no acidente botrópico estão relacionadas principalmente com as plaquetas e fatores de coagulação (JORGE & RIBEIRO, 1988; 1989; THOMAZINI et al., 1991; MARKLAND, 1998).

As alterações de coagulação sangüínea ocorrem devido ao veneno botrópico possuir uma fração do “tipo trombina” (NAHAS et al., 1964; AMARAL et al., 1988), capaz de converter o fibrinogênio diretamente em fibrina, levando o doente a uma afibrinogenemia (AMARAL et al., 1980). O consumo do fibrinogênio pode resultar em aumento no tempo de coagulação e incoagulabilidade sangüínea. (AMARAL et al., 1988; BARRAVIERA, 1990).

Rosenfeld et al. (1960-62) e Kelen et al. (1960-62) observaram que os venenos das serpentes dos gêneros Bothrops e Crotalus causam hemólise “in vitro” quando colocados em contato com hemácias de diferentes espécies animais. Com relação ao número de plaquetas, geralmente não há redução do seu número “in vivo”, mas ocorre indução de agregação plaquetária “in vitro” (JORGE & RIBEIRO, 1988).

Burdmann et al. (1993) observaram hemólise intravascular, confirmada pela diminuição significante do hematócrito, e um aumento de desidrogenase láctica e hemoglobina livre.

Takahira (1999) observou aumento dos niveis de produtos de degradação da fibrina e do fibrinogênio (PDFs) em cães intoxicados experimentalmente pelo veneno botrópico.

Maruñak et al. (2006) observaram as atividades coagulante e fibrinolitica do veneno da serpente Bothrops jararacussu.

2.4.6 EFEITOS HEMATOLÓGICOS

Os sinais da resposta inflamatória induzida pelo veneno botrópico são característicos de um quadro de inflamação aguda que se evidencia por 3 eventos principais: (1) alteração no calibre vascular, que leva a um aumento no fluxo sanguineo, (2) mudanças estruturais na microvasculatura, permitindo que as proteínas plasmáticas e leucócitos deixem a circulação e (3), emigração de leucócitos da microcirculação e seu acumulo no foco da injúria (COLLINS, 1999).

O número de eritrócitos tem uma leve queda após 48 horas do envenenamento botrópico e isto é atribuído a hemorragias locais e sistêmicas. Sendo que a hemorragia tende a parar após a aplicação do antiveneno (SANO-MARTINS et al., 1995 e SANTORO et al., 2008).

São encontrados graus variáveis de trombocitopenia em pacientes acidentados com serpentes pertencentes à família vipiridae, algumas espécies da Elapidae e Colubridae (MEYER & WHITE, 1995). A ocorrência de trombocitopenia com hemorragias sistêmicas espontâneas depende particularmente do veneno envolvido, especialmente se as plaquetas são também inativadas, mas sabe-se que trombocitopenia em adição a tempo de coagulação prolongado pode provocar maior risco à ocorrência de hemorragias. O número de plaquetas em pacientes com hemorragias locais e sistêmicas recuperou-se logo após a aplicação do anti-veneno (SANTORO et al., 2008).

Pode ser observado um leucograma de estresse, que é caracterizado pela leucocitose com neutrofilia, linfopenia e eosinopenia em acidentes botrópicos (SANTORO et a., 2008). Assim, em experimento com cães intoxicados com veneno botrópico foi observada leucocitose por neutrofilia e linfopenia (SANO-MARTINS et al., 1995).

2.4.7 ACHADOS ANATOMOPATOLÓGICOS

O veneno botrópico tem ações direta e indireta sobre as estruturas e funções renais (BOER-LIMA et al., 1999). Além de lesões renais são observadas lesões no local da inoculação do veneno (MILANI et al., 1997; TAKAHIRA, 1999; TOKARNIA & PEIXOTO, 2006; MOTTA et al., 2007).

Takahira (1999) observou, após a inoculação do veneno botrópico, alterações na musculatura como edema, hemorragia e infiltrado inflamatório polimorfonuclear e também algumas alterações nas estruturas renais como: degeneração hidrópica renal e necrose tubular. Alem dessas alterações, foi observado também comprometimento das estruturas hepáticas.

Milani et al. (1997) observaram aparecimento de necrose tubular aguda em humanos acidentados por Bothrops jararacussu.

Motta et al. (2007) observaram edema, congestão, hemorragia, necrose de coagulação em musculatura esquelética no local da inoculação experimental do veneno botrópico em ratos. Também observaram necrose tubular aguda e degeneração hidrópica renal.

Oliveira et al. (2004) observaram que no baço, de bovinos intoxicados experimentalmente com veneno botrópico, foram encontrados acentuada congestão e hiperplasia de folículos linfóides. O miocárdio apresentava congestão, hemorragia e infiltrado neutrofílico perivascular.

Báez et al. (2005) observaram na histopatologia, em um paciente canino acidentado por serpente do gênero Bothrops, focos hemorrágicos no cérebro e cerebelo, meninges intensamente edemaciadas e infiltrado inflamatório escassos, e no miocárdio observaram necrose de coagulação de fibras musculares.

2.5 COMPOSIÇÃO DO VENENO CROTÁLICO

A quantidade de veneno inoculada no ato da picada depende de fatores como o tamanho da serpente, tempo decorrido entre uma picada e outra, idade da serpente, e o local da picada (ARAÚJO & BELLUOMINI, 1960-62). Portanto, não existem dados precisos a respeito da dose de veneno inoculada, uma vez que a quantidade de veneno obtida por extração nem sempre reflete as

condições naturais. Em um estudo realizado por Rosenfeld et al. (1960-62), a quantidade máxima extraída de veneno de serpentes Crotalus durissus terrificus, recebida no Instituto Butantan, foi de 50 mg.

As principais frações do veneno crotálico são: crotoxina, crotamina, giroxina e convulxina (MOURA GONÇALVES & VIEIRA, 1950; BARRIO, 1961; PRADO-FRANCESCHI & VITAL BRAZIL, 1981; ROODT et al. 1996; OGUIURA et al., 2005). A crotoxina corresponde a 50% do veneno, sendo formada por uma fração básica chamada crotoxina B, com atividade fosfolipase A_2, e uma fração ácida chamada crotoxina A ou crotapotina, sem atividade enzimática (PUIG et al., 1995; ROODT et al., 1996). A fosfolipase A_2 sem a crotapotina, apresenta fraco efeito neurotóxico e a crotapotina isoladamente é completamente desprovida de toxicidade. Quando essas subunidades estão associadas, o complexo apresenta um aumento de dez vezes na toxicidade em comparação com a fosfolipase A_2 isoladamente (BON et al., 1979). O complexo crotoxina dissocia-se após a interação com membranas pré-sinápticas. Esta interação ocorre mediante à ligação específica da fosfolipase A_2 às membranas pré-sinápticas (KRIZAJ et al., 1996).

A maior parte dos venenos ofídicos possui atividade fosfolipásica e, sendo a bainha de mielina constituída de lipídios, pode-se admitir que, dependendo da concentração dessa enzima, podem ocorrer lesões em componentes nervosos intramusculares. Na inoculação de fosfolipase A_2, observou-se necrose muscular independente da dose inoculada, concluindo-se, portanto que as lesões provocadas pela crotoxina, embora mais graves, são as mesmas provocadas pela fosfolipase A_2 (KINI & EVANS 1989).

A fração crotoxina produz efeitos tanto no sistema nervoso central (SNC) como no sistema nervoso periférico (SNP) (SALIBA et al., 1983). Causa lesões em fibras musculares, provocando bloqueio periférico da transmissão neuromuscular, desencadeando falhas na liberação de acetilcolina na pré-sinapse, podendo levar o paciente a óbito por paralisia respiratória por atuar em canais iônicos (VITAL BRAZIL, 1972; OKAMOTO et al., 1983).

A crotamina, um polipeptídeo básico, é muito menos tóxica que a crotoxina e ativa canais de sódio quase que exclusivamente na membrana celular e nas fibras do músculo esquelético, induzindo um influxo deste cátion (SLOTTA & FRAENKEL-CONRAT, 1938; MOURA-GONÇALVES & VIEIRA,

1950; CHANG & TSENG, 1978). Com isso, ocorre a despolarização da membrana celular e forte contração muscular, induzindo a mionecrose caracterizada por extensa vacuolização do retículo endoplasmático e rompimento dos filamentos de actina e miosina (TOYAMA et al., 2000). Outro dado importante da crotamina recai sobre a sua potente ação analgésica, muitas vezes comparada à morfina, observada primeiramente em ratos (HUDELSON & HUDELSON, 1995; MANCIN et al., 1998)

A convulxina induz a síntese de tromboxano $A_{2,}$ agregante plaquetário potente, e conseqüentemente causa agregação plaquetária in vitro (BARRAVIERA, 1994a; FRANCISCHETTI et al., 1997). Outros sinais clínicos atribuídos à convulxina são o aparecimento de convulsões, perturbações circulatórias e respiratórias (AMARAL et al., 1991).

A giroxina é uma toxina composta por quarenta e dois aminoácidos pertencentes à família das miotoxinas (Small Basic Polypeptide Myotoxins) e amplamente distribuída pelo veneno crotálico. Induz à espasmos na musculatura esquelética causando paralisia por, também, interagir com canais de sódio nas células musculares (OGUIURA et al., 2005).

Assim, o veneno da serpente Crotalus durissus terrificus possui como principais ações: neurotóxica (VITAL BRAZIL, 1972; 1980; OGUIURA et al, 2005), miotóxica (AZEVEDO-MARQUES et al., 1985), coagulante (AMARAL et al.,1988, NOGUEIRA & SAKATE, 2006) e hemolítica “in vitro” (ROSENFELD et al., 1960-62), discutindo-se a existência desta ação “in vivo” (AMARAL et al., 1988, NOGUEIRA, 2001, NOGUEIRA & SAKATE, 2006).

2.6 EFEITOS CLÍNICOS DO VENENO CROTÁLICO

Araújo & Belluomini (1960-62) observaram que a dose de 1mg/kg de peso vivo do veneno crotálico em animais domésticos e de laboratório, pode ser letal, sendo que eqüinos, ovinos e bovinos foram os mais sensíveis, seguidos de forma decrescente pelos caprinos, caninos, coelhos, suínos, cobaios, camundongos, felinos e hamsters, além do rato que sobreviveu a todos os venenos. Este estudo também demonstrou o grau de toxicidade dos venenos e o veneno crotálico foi considerado mais tóxico do que o botrópico.

Os efeitos decorrentes da intoxicação crotálica podem ser divididos em locais e sistêmicos. Na maioria das vezes, a reação local não é observada, embora em alguns casos edema discreto a moderado e dor possam estar presentes. Em um estudo realizado em bovinos, por Soerensen et al. (1995), foram relatados quadro de congestão e discreta hemorragia no local da inoculação do veneno crotálico. Nishioka et al. (2000) descrevem um acidente crotálico em humano que apresentou, como complicação, o aparecimento de abscesso no local da picada, porém, este é ocorrência rara.

2.6.1 EFEITO MIOTÓXICO

Alguns autores verificaram, experimentalmente, o efeito miotóxico do veneno de Crotalus durissus terrificus, predominantemente sobre fibras musculares esqueléticas do tipo I, com liberação de mioglobina e elevação de enzimas marcadoras de lesão muscular como creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH) e aspartato aminotransferase (AST) (AZEVEDO-MARQUES et al., 1982; MAGALHÃES et al., 1986; HUDELSON & HUDELSON, 1995; JORGE & RIBEIRO, 1992).

Salvini et al. (2001), em estudo experimental com ratos, sugeriram também uma ação sistêmica e seletiva da crotoxina em regiões de músculos compostos por fibras do tipo I ou II A.

Azevedo-Marques et al. (1985) relatam dois casos de rabdomiólise, em humanos, secundários a envenenamento produzido por Crotalus durissus terrificus, com sinais de mialgias intensa e generalizada e constatação de níveis séricos elevados de CK, LDH e AST, com confirmação do diagnóstico pela detecção de mioglobina no soro por meio de imunoeletroforese e de biópsia muscular. Além dos achados laboratoriais, a histopatologia também pôde contribuir de forma importante na confirmação de rabdomiólise (ROSSI et al., 1989).

Bucaretchi et al. (2002) relataram que, em 31 crianças vítimas do acidente crotálico, foram observadas várias alterações musculares sugerindo rabdomiólise, como aumento dos níveis de atividade de CK e LDH e mioglobinúria.

Há referência sobre estudos experimentais mostrando a ação miotóxica local da crotoxina e da crotamina em camundongos com o aparecimento de necrose de coagulação (HUDELSON & HUDELSON, 1995).

Perez et al. (1997a) relatam que, na inoculação experimental do veneno de Crotalus durissus terrificus em ratos, houve lesões em tecido muscular esquelético a partir de três horas, com necroses miolítica e coagulante, com aumento nos níveis de atividade das enzimas CK e AST.

Um relato de caso, sobre acidente crotálico em um cão na Argentina, evidenciou a presença de edema de tecido conjuntivo no músculo afetado e necrose em muitas fibras musculares, sendo que no membro contralateral ao da picada também foi observada a mionecrose (KOSCINCZUK et al., 2000).

A ação miotóxica provoca mialgias que podem aparecer precocemente. A fibra muscular esquelética lesada libera quantidades variáveis de mioglobina (antigamente interpretada como sendo hemoglobina) que, excretada na urina (mioglobinúria), confere a essa uma coloração marrom escura (AMORIM et al., 1969).

2.6.2 EFEITO NEFROTÓXICO

A ação nefrotóxica do veneno crotálico pode ser indireta em decorrência da mioglobinúria secundária a rabdomiólise, que levaria à obstrução tubular por cilindros de mioglobina e lesão tóxica direta desse veneno nos túbulos renais (MAGALHÃES et al., 1986; SOERENSEN, 1990).

Magalhães et al. (1986) relataram o caso de um paciente humano que desenvolveu, como complicação do acidente crotálico, quadros clínico e laboratorial de insuficiência renal aguda com a instalação de oligúria, hipotensão arterial, hipocalcemia e hiperfosfatemia.

Azevedo-Marques et al. (1985) relataram dois casos de pacientes humanos vítimas de acidente crotálico que desenvolveram rápida falência renal requerendo a diálise. Segundo Cupo et al. (1991a), 20% de pacientes, atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, desenvolveram necrose tubular aguda, sendo que dois deles necessitaram de métodos dialíticos. Bucaretchi et al. (2002) também relataram que três crianças, de um total de seis, atendidas após seis horas do acidente

crotálico, evoluíram para insuficiência renal aguda, sendo que duas delas necessitaram de hemodiálise.

Glomerulonefrite e degeneração tubular foram relatadas, por Amorim et al. (1969), em cães intoxicados experimentalmente com veneno crotálico.

Rovere et al. (1978) relataram que o veneno crotálico reduz de maneira significativa o fluxo sangüíneo cortical renal e que, 35 minutos após a inoculação do veneno em ratos, foi observada trombose dos capilares glomerulares, o que sugere a diminuição da irrigação cortical, contribuindo para a instalação da insuficiência renal aguda.

Em outro trabalho, experimental em ratos, com o veneno crotálico, foram observados, em tecido renal, sinais de congestão cortical a partir de três horas, e nas próximas 24 horas, a congestão estendeu-se às zonas justaglomerulares com o aparecimento de pequena quantidade de cilindros hialinos (PEREZ et al., 1997a).

Um estudo, realizado por Monteiro et al. (2001), demonstrou que o veneno de Crotalus durissus terrificus e a crotoxina, seu principal componente, causam nefrotoxicidade aguda em rato, e sugerem que as alterações renais possam ser o resultado de uma ação direta desses ou da liberação de mediadores em tecido renal. Martins et al. (2002) também relatam que a crotoxina é o componente principal responsável pela nefrotoxicidade causada pelo veneno de Crotalus durissus.

Outros fatores como desidratação, hipotensão arterial, acidose metabólica e choque hipovolêmico podem contribuir para a instalação da lesão renal (LOPEZ et al., 1972; SOERESEN, 1990). As lesões renais, quando instaladas, podem provocar oligúria e anúria com elevação dos níveis de uréia, creatinina, ácido úrico, fósforo e potássio séricos, levando o paciente à morte por insuficiência renal aguda com necrose tubular (AZEVEDO & TEIXEIRA, 1938; ROSENFELD, 1971; AMARAL et al., 1986).

2.6.3 EFEITO NEUROTÓXICO

Os efeitos neurotóxicos comumente observados na intoxicação crotálica em humanos são os transtornos de locomoção, fasciculações, flacidez da musculatura da face, ptose palpebral, midríase, oftalmoplegia (ROSENFELD et al., 1960-62), disfagia e dificuldade de fonação, além de sialorréia, vômitos e diarréia (BARRAVIERA, 1994a; HUDELSON & HUDELSON, 1995). Bucaretchi et al. (2002) relatam ptose palpebral, mialgia e fraqueza em crianças picadas por serpentes do gênero Crotalus.

Oliveira et al. (2003) descreveram quatro envenenamentos por Crotalus durissus da região norte do Estado do Pará, onde todos os pacientes humanos apresentaram visão escura e ptose palpebral bilaterais.

Quadros de insuficiência respiratória, devido a neurotoxicidade do veneno, foram relatados em pacientes humanos como complicação do acidente crotálico (AMARAL et al.,1991; JORGE & RIBEIRO, 1992; LOPEZ et al., 1972; RIBEIRO et al.; 1998).

Ratas inoculadas com veneno de Crotalus durissus terrificus manifestaram alterações neurológicas como ptose palpebral e midríase bilateral, dispnéia, insensibilidade e paralisia progressiva (PEREZ et al., 1997a).

Lago et al. (2000), em trabalho de intoxicação experimental em bovinos, relatam um quadro clínico neurotóxico no qual se observaram, na segunda hora de evolução: apatia, cabeça baixa, letargia profunda e edemaciação discreta no local da inoculação. Na sexta hora, o quadro evoluiu para mioclonias e na décima, incoordenação motora e decúbito esternal.

Koscinczuk et al. (2000) relatam casos de dois cães picados por cascavel e revelam que sinais neurológicos como ptose palpebral, anisocoria e sialorréia foram evidentes poucos minutos após o acidente. Nogueira (2001) também observou ataxia, sedação, paralisia de músculos mandibulares com dificuldade de deglutição e fonação, sialorréia, midríase responsiva à luz e mialgia generalizada em cães intoxicados experimentalmente por veneno crotálico.

2.6.4 EFEITOS COAGULANTES E HEMOLÍTICOS

As alterações hemostáticas encontradas no acidente crotálico estão relacionadas principalmente com as plaquetas e fatores de coagulação (JORGE & RIBEIRO, 1988; 1989; MARKLAND, 1998; THOMAZINI et al., 1991).

Rosenfeld et al. (1960-62) e Kelen et al. (1960-62) observaram que os venenos das serpentes dos gêneros Bothrops e Crotalus causam hemólise “in vitro” quando colocados em contato com hemácias de diferentes espécies animais. Com relação ao número de plaquetas, geralmente não há redução do seu número “in vivo”, mas ocorre indução de agregação plaquetária “in vitro” (Jorge & Ribeiro, 1988).

As alterações de coagulação sangüínea ocorrem devido ao veneno crotálico possuir uma fração do “tipo trombina” (NAHAS et al., 1964), capaz de converter o fibrinogênio diretamente em fibrina, levando o doente a uma afibrinogenemia (AMARAL et al., 1980). O consumo do fibrinogênio pode resultar em aumento no tempo de coagulação e incoagulabilidade sangüínea. (AMARAL et al., 1988; BARRAVIERA, 1990; NOGUEIRA, 2001). Mesmo com as alterações de coagulação, a presença de sangramento em indivíduos acidentados com Crotalus durissus é extremamente baixa (JORGE & RIBEIRO, 1992; NOGUEIRA, 2001).

2.6.5 EFEITOS HEPATOTÓXICOS

A hepatotoxicidade do veneno de Crotalus durissus terrificus foi demonstrada, inicialmente, em seres humanos. As alterações devem-se a dois mecanismos: lesão de mitocôndrias e efeito de citocinas, principalmente interleucina-6 (IL 6) e IL-8 nos hepatócitos (BARRAVIERA, 1989; 1991; 1993).

Barraviera et al. (1995) observaram, em estudo com 32 pacientes picados por serpentes do gênero Crotalus, o aumento da retenção da bromossulfaleína havendo, neste aumento, uma correlação positiva com os níveis séricos de alanina-aminotransferase (ALT) e aspartato-aminotransferase (AST), na maioria desses doentes.

Perez et al. (1997b) relatam que, após a inoculação do veneno crotálico em ratos, foi encontrado comprometimento do tecido hepático com congestão e dilatação de grandes vasos sangüíneos. Os sinusóides periféricos apresentaram hemossiderina em 24 horas e pequenas vênulas continham trombos.

2.6.6 ACHADOS HEMATOLÓGICOS

Um relato de caso, sobre acidente crotálico em uma cadela gestante, avaliou-se as alterações clínicas conseqüentes, em que foi possível determinar edema discreto na região da picada (área lateral da cocha esquerda), sem sinais de mialgia local. O teste para determinação da presença de mioglobina na urina foi positivo e os valores de enzimas musculares CK e hepáticas AST mostraram elevações significativas quatro horas após o acidente. O animal foi tratado com soroterapia e terapia de suporte apresentando melhora total do quadro clínico após três dias e foi acompanhado durante todo o período gestacional. Não foram verificadas alterações fisiológicas, neurológicas ou más-formações nos neonatos que foram acompanhados até os 60 dias de idade (COLLICCHIO et al., 2002).

Bucaretchi et al. (2002) relataram 31 casos de crianças vítimas de acidente crotálico, e observaram alterações características de rabdomiólise, em que 28 crianças apresentaram valores altos de CK; 25, de LDH e 14 delas com mioglobinúria.

Lago et al. (2004) intoxicaram novilhas mestiças com veneno crotálico e relataram valores altos e crescentes de CK após 6, 12, 16 e 20 horas da aplicação do veneno.

Nogueira et al. (2007a) observaram leucocitose por neutrofilia, linfopenia e eosinopenia quadro sugestivo de inflamação aguda ou estresse causado pela dor generalizada.

2.6.7 ACHADOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Alguns autores estudaram o efeito da crotoxina, crotapotina e da fosfolipase A_2 sobre a musculatura esquelética de animais. Os autores observaram que as alterações anatomopatológicas decorrentes da inoculação de crotoxina ocorrem quatro a seis horas após a inoculação, e são lesões subsarcolêmicas, com edema intramitocondrial e densos depósitos de cálcio. As alterações decorrentes da inoculação de fosfolipase A_2 culminam em necrose muscular. Com a inoculação de crotapotina não se evidenciaram lesões histológicas (DEMPSTER et al., 1980; GOPALAKRISHNAKONE et al., 1984).

Amorim et al. (1969), em experimentos realizados com cães com o veneno crotálico, observaram alterações como microhemorragia em vários órgãos e lesões degenerativas graves como necrose tubular renal principalmente na porção ascendente da alça de Henle e túbulo contorcido distal. Em alguns desses cães, também, estava presente a glomerulonefrite focal. Achados histopatológicos semelhantes foram constatados também em material de três pacientes humanos vítimas de acidente crotálico (AMORIM et al.,1952).

Nogueira et al. (2007a) observaram que havia edema discreto no local de inoculação e áreas multifocais de coloração branca devido à degeneração e necrose, e foi obvervada também atividade miorregenerativa discreta.

Em trabalho realizado por Monteiro et al. (2001), a avaliação histopatológica, de rins de ratos inoculados com veneno crotálico e crotoxina, revelou a presença de grande quantidade de material protéico em glomérulos e túbulos renais. Os autores sugerem, como possíveis causas para essas alterações, o efeito tóxico direto do veneno em glomérulos e túbulos renais ou o aumento de permeabilidade vascular renal.

Alterações anatomopatológicas foram relatadas em 16 bovinos intoxicados experimentalmente por veneno da Crotalus durissus terrificus. Foram observadas lesões hemorrágicas no sistema nervoso central, necrose arteriolar hialina no cérebro e nos pulmões em 43% dos animais, e glomerulonefrite focal em 31% dos casos. No local da inoculação do veneno, foram observadas resposta inflamatória na camada dermal e grave miosite

purulenta. As alterações hepáticas e do miocárdio foram evidenciadas como degeneração hidrópica e esteatose (BELLUOMINI et al., 1983).

Azevedo-Marques et al. (1985) relatam mionecrose no local da picada por Crotalus durissus terrificus com desintegração miofibrilar, desorganização e lise de miofilamentos, perda de estriamentos transversais e dilatação do retículo sarcoplasmático em dois pacientes atendidos no Hospital da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Foram encontrados também doença tubular aguda, caracterizada por degeneração epitelial e necrose além de múltiplas erosões das mucosas esofágica, gástrica e duodenal, edema cerebral, rabdomiólise e broncopneumonia.

Siqueira et al. (1990) relatam microvacuolização, com formação de massas amorfas, no interior de fibras cardíacas, necrose maciça e contração presente na camada média das artérias coronárias atribuída a vasoespasmos em uma paciente humana vítima de acidente crotálico, sem histórico anterior de cardiopatia.

Alterações hepáticas foram propostas em 1954, quando Wajchenberg et al. estudaram nove pacientes humanos picados por Crotalus durissus terrificus, descrevendo esteatose e congestão hepática em dois pacientes e necrose centrolobular em um deles.

Hiperemia hepática em coelhos, ratos e cães tem sido observada nas intoxicações experimentais com veneno crotálico. A ocorrência de trombos em ramos venosos portais em cães foi citada por Amorim et al. (1951). Degeneração hidrópica, esteatose hepática e necrose miocárdica foram relatadas em bovinos por Saliba et al. (1983).

Barraviera et al. (1995) relatam um quadro de degeneração hidrópica e lesões mitocondriais hepáticas em um paciente humano acidentado por Crotalus durissus terrificus que foi a óbito 28 horas após a sua hospitalização.

Um estudo realizado com ratos demonstrou que o veneno da Crotalus durissus terrificus após ser inoculado por via subcutânea, na região do coxim plantar, causou um infiltrado inflamatório rico em neutrófilos ao redor de fibras nervosas sem a presença de hemorragia (PEREZ et al., 1998).

2.7 DIAGNÓSTICO, TRATAMENTO E PROGNÓSTICO DOS ACIDENTES BOTRÓPICO E CROTÁLICO

O diagnóstico do ofidismo é realizado pelos sinais clínicos apresentados pelo animal, exames laboratoriais e reconhecimento do gênero da serpente (PINHO et al., 2000).

O diagnóstico do tipo de ofidismo nas regiões onde não existem serpentes do gênero Lachesis, é relativamente fácil. Porém, na região amazônica, onde há concomitância dos dois gêneros de serpentes, Bothrops e Lachesis, muitas vezes o diagnóstico diferencial torna-se difícil, já que a clínica dos dois acidentes é muito semelhante (BRASIL, 1998). O exame laboratorial, por meio da aplicação do ensaio imunoenzimático de fase sólida (ELISA), permite detectar o tipo de veneno inoculado (THEAKSTON et al., 1977). Perante à dificuldade diagnóstica na região amazônica, Chavez-Olortegui et al. (1993) desenvolveram uma técnica de ELISA que diferencia os venenos de B. atrox, serpente predominante nessa região, de Lachesis muta muta.

Segundo Murtaugh & Kaplan (1992), vários fatores podem contribuir para a gravidade do acidente ofídico e dentre estes, encontram-se a variação individual (idade, peso, condições gerais do organismo), a quantidade de veneno inoculada, o número de picadas, o local atingido e o tempo decorrido até o tratamento.

Devido à grande freqüência e, conseqüentemente, sua importância e a facilidade de se obter casos clínicos suficientes para os estudos, as primeiras avaliações das doses de soro necessárias para o tratamento do ofidismo foram feitas para o envenenamento botrópico (RIBEIRO & JORGE, 1997).

Os acidentes botrópico (quadro 2) e crotálico (quadro 3) podem ser classificados em leve, moderado e grave, segundo a Fundação Nacional de Saúde (BRASIL, 2001).

QUADRO 2 – Acidente Botrópico - Classificação quanto à gravidade e soroterapia recomendada (BRASIL, 2001).

Manifestações e Tratamento	Classificação (Avaliação Inicial)		
	Leve	Moderado	Grave
Locais ▪ Dor ▪ Edema ▪ Equimose	Ausente ou discreta	Evidente	Intensas**
Sistêmicas ▪ Hemorragia grave ▪ Choque ▪ Anúria	Ausente ou discreta	Discreta	Intensa
Urina vermelha ou Marrom	Ausente	Pouco evidente ou ausente	Presente
Tempo de Coagulação (TC)*	Normal ou alterado	Normal ou alterado	Normal ou alterado
Soroterapia (nº ampolas) SAC/SABC/SABL***	2 – 4	4 – 8	12
Via de administração	INTRAVENOSA		

* TC normal: até 10 min; TC prolongado: de 10 a 30 min; TC incoagulável: > 30min. Sendo que o normal é até 10 min e o alterado >10 min, em humanos.

** Manifestações locais intensas podem ser o único critério para classificação de gravidade.

***SAB = Soro anticrotálico/SABC = Soro antibotrópico-crotálico/SABL = Soro antibotrópico-laquético.

QUADRO 3 – Acidente Crotálico - classificação quanto à gravidade e soroterapia recomendada (BRASIL, 2001).

Manifestações e Tratamento	Classificação (Avaliação Inicial)		
	Leve	Moderado	Grave
Fácies miastênica/ Visão turva	Ausente ou tardia	Discreta ou evidente	Evidente
Mialgia	Ausente ou discreta	Discreta	Intensa
Urina vermelha ou Marrom	Ausente	Pouco evidente ou ausente	Presente
Oligúria/Anúria	Ausente	Ausente	Presente ou ausente
Tempo de Coagulação (TC)	Normal ou alterado	Normal ou alterado	Normal ou alterado
Soroterapia (nº ampolas) SAC/SABC*	5	10	20
Via de administração	INTRAVENOSA		

* TC normal: até 10 min; TC prolongado: de 10 a 30 min; TC incoagulável: > 30min. Sendo que o normal é até 10 min e o alterado >10 min, em humanos.

* SAC = Soro anticrotálico/SABC = Soro antibotrópico-crotálico.

Segundo Sakate (2007)[1], nos casos de acidente ofídico, tanto botrópico quanto crotálico, os animais podem apresentar alteração na coloração da urina e aumento no tempo de coagulação (TC), que pode não apresentar relação

[1] SAKATE, M. (Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Unesp – Campus de Botucatu. Comunicação Pessoal, 2007).

direta com a gravidade do quadro, diferentemente do que é observado em humanos.

O único tratamento eficaz para neutralizar a ação dos venenos crotálico e botrópico é por meio da soroterapia heteróloga, como o soro antiofídico antibotrópico-crotálico (SABC) ou soroterapia específica anticrotálica (SAC) ou soroterapia específica antibotrópico (SAB). Como o objetivo do tratamento é neutralizar a maior quantidade possível do veneno circulante, independentemente do peso do paciente, o soro deve ser administrado o mais precocemente possível após o acidente, e assim, pequenos e grandes animais devem receber a mesma dose desse (Brasil, 1987). O soro bivalente é o mais facilmente encontrado e utilizado na medicina veterinária.

O tratamento é baseado na quantidade de veneno inoculada no animal. No caso de veneno botrópico, a quantidade de veneno a ser neutralizada é de pelo menos 100 mg e no acidente crotálico, a quantidade a ser neutralizada é de pelo menos 50 mg do veneno. O soro antiofídico comercial é padronizado para que 1 mL do soro neutralize 2 mg do veneno botrópico e 1 mg do veneno crotálico, então a mínima quantidade de soro antiofídico a ser administrada no caso de acidente ofídico (Crotalus e Bothrops) é de 50 mL independente do tamanho do animal (FERREIRA JUNIOR & BARRAVIERA, 2004).

Foi realizado um experimento clínico (randomizado e duplo-cego) pelo Butantan Institute Anti-venenom Study Group (BIASG), em que 88 pacientes, acidentados com veneno botrópico, receberam tramamento com 4 a 8 ampolas de soro antibotrópico de uso habitual, respectivamente para casos de envenenamentos botrópico leve e moderado, e 82 pacientes tratados igualmente com 4 a 8 ampolas, porém receberam ampolas que apresentavam metade da capacidade de neutralização (antiveneno diluído pela metade). Não foram observadas diferenças nos resultados obtidos nestes dois grupos,isto é, na normalização da coagulação sangüínea, nos níveis séricos de fibrinogênio e produtos da degradação da fibrina/fibrinogênio e na freqüência de evolução para necrose e abscesso (JORGE & RIBEIRO, 1997).

Atualmente, a via intravenosa é a recomendada para a administração do antiveneno, pois quanto mais rápida a absorção do soro maior será a quantidade de veneno neutralizada (JORGE & RIBEIRO, 1989; 1992; RIBEIRO et al., 1993; SAKATE, 2002). As vias subcutânea e intramuscular podem ser

consideradas quando houver o impedimento do uso da via intravenosa (SAKATE, 2002).

Se após 24 horas do tratamento inicial, o animal não demonstrar melhora do quadro (incoagulabilidade sanguínea, depressão profunda, mioglobinúria), deve-se repetir a soroterapia com soro antiofídico, aplicando-se pelo menos a metade da dose inicial deste soro (SAKATE, 2002).

As reações à soroterapia, de modo geral, podem ser classificadas em precoces (RP) e tardias (RT). As reações precoces, também denominadas de imediatas, geralmente ocorrem durante a infusão do antiveneno ou nas duas horas subseqüentes, e são subdivididas em três tipos: anafiláticas, anafilactóides e pirogênicas (CUPO et al., 1991b). Os sinais e sintomas freqüentemente observados são urticária, prurido, tremores, dispnéia, tosse e náuseas (BRASIL, 1998).

Fatores como dose do antiveneno usada, via de administração, velocidade de infusão, qualidade de purificação e sensibilização prévia com algum tipo de soro heterólogo podem favorecer o aparecimento de reações precoces (BRASIL, 1998).

As reações precoces (RP) à soroterapia podem ser prevenidas com a administração prévia de antagonistas H_1 e H_2 como a dextroclorfeniramina, prometazina, cimetidina, ranitidina e corticosteróides como a hidrocortisona, 10 a 15 minutos antes da administração do soro (Brasil, 1990).

Conceição et al. (2007) observaram, em um cão acidentado por serpente do gênero Crotalus, reação anafilática após a aplicação de soro antiofidico intravenosa.

O tratamento das RP consiste na suspensão imediata e temporária da infusão do soro antiveneno e tratamento sintomático dessas reações com adrenalina por via intravenosa (IV), hidrocortisona IV, difenidramina IV ou intramuscular (IM) e expansão da volemia por meio de fluidoterapia. Caso ocorra insuficiência respiratória, entubar o paciente, manter oxigenação adequada e usar drogas broncodilatadoras por via IV (BRASIL, 1998).

As reações tardias (RT), conhecidas como “doença do soro”, manifestam-se por exantema pruriginoso, febre, artralgia, linfoadenomegalia, urticária, articulações edemaciadas, vermelhas e doloridas, ocorrendo geralmente entre cinco a 24 dias após o contato com o soro heterólogo em

humanos, porém, não existem relatos sobre isso em cães (BARRAVIERA & PERAÇOLI, 1994).

Além do tratamento específico com o antiveneno, outros procedimentos são de fundamental importância para o restabelecimento do paciente acometido por veneno ofídico. O tratamento geral no acidente crotálico inclui estabilização da volemia, correções da desidratação e do quadro de acidose, preservação da função renal e prevenção da instalação de insuficiência renal aguda, além da manutenção do acesso vascular. A fluidoterapia pode ser realizada com o uso de solução de NaCl a 0,9% associada ao bicarbonato. O uso de bicarbonato é indicado para que o pH urinário seja mantido acima de 6,5, pois a urina ácida potencializa a precipitação intratubular de mioglobina. Assim, a alcalinização da urina deve ser feita pela administração de bicarbonato de sódio a 8,4%, diluído em solução de NaCl a 0,9%, na dose de 2 a 4 mEq/kg, IV (BARRAVIERA, 1994; HACKETT et al. 2002; NOGUEIRA et al., 2006; CONCEIÇÃO et al., 2007).

O animal que sofreu o envenenamento por Bothrops ou Crotalus deve ser observado, por no mínimo, 72 horas e ficar em um lugar silencioso e confortável. Pode ser induzida a diurese em caso de oligúria com o uso de manitol 20% (0,25 a 0,5 g/kg) e se necessário, o uso de diuréticos como a furosemida na dose de 2 a 4 mg/kg. O uso de antibióticos é recomendado principalmente em acidentes por serpentes do gênero Bothrops por causar lesões extensas no local da picada, além disso a picada da serpente acaba injetando alguns microorganismos patogênicos (FERREIRA JUNIOR & BARRAVIERA, 2004).

Como o animal apresenta anorexia, dificuldade de mastigação, paralisia dos músculos faciais e depressão muito grave no acidente crotálico, há a necessidade da realização da alimentação forçada ou alimentação enteral com alimento líquido ou pastoso, até que o animal se recupere, além de umidificação da mucosa oral e aplicação de colírio ou solução fisiológica na córnea para evitar o aparecimento de úlceras pelo ressecamento (SAKATE, 2002).

Outros procedimentos como o uso de torniquete, incisão no local, sucção e uso de produtos químicos são contra-indicados no acidente ofídico, pois podem agravar o quadro clínico do paciente (AMARAL et al., 1998).

Boechat et al. (2001), em estudo com heparina, na dose de 6UI, associada ao soro antiofídico, mostraram a capacidade da mesma em neutralizar a formação do edema causado por B. erythromelas e aumentar o efeito do soro antiofídico. Heparina também neutralizou a atividade da fosfolipase A2 do veneno da B. atrox (14,3%) e B. erythromelas (28,0%). Para a B. erythromelas, a associação do tratamento, heparina mais o soro antiofídico, foi mais efetiva do que o soro antiofídico isolado, em relação à letalidade. A aplicação do soro antibotrópico isolado teve 58% de proteção contra a formação de edema, mas quando administrado com heparina, esta proteção aumentou para 92%.

Presumindo que o veneno botrópico, imediatamente depois de aplicado por via intramuscular, não fosse totalmente absorvido, Agostini Utescher et al. (1994) administraram 50% da dose, por via intraperitoneal (IP) e o restante por via intramuscular (IM) de soro antibotrópico imediatamente após a inoculação do veneno no mesmo local. Não foi observada uma maior sobrevida dos camundongos em relação ao grupo que apenas recebeu soro antibotrópico IP. Apesar de ter avaliado apenas a evolução para óbito, foi possível concluir que os soros antibotrópico e anticrotálico devem ser administrados apenas por via intravenosa (IV).

Yildirim et al. (2006) relataram que o uso de plasmaférese foi clinicamente efetivo e seguro no tratamento de picadas por serpentes. Além da terapia convencional, a técnica de plasmaférese auxiliará no tratamento emergencial dos acidentes ofídicos.

Extratos vegetais constituem uma alternativa para tratamento de ofidismo, pois exibem uma diversidade grande de combinações químicas com várias atividades farmacológicas de interesse médico-científico. Um número grande de extratos mostrou boas atividades antivenenos (SOARES, 2004).

Santos et al. (2003), em seu estudo com o tratamento de envenenamento botrópico experimental em cães, observou que o uso de extrato de Curcuma longa no tratamento de acidente por serpentes do gênero Bothrops é eficiente sobre a necrose decorrente da atividade proteolítica.

A planta Mikania glomerata, da família Asteraceae, encontrada na Mata Atlântica brasileira e popularmente conhecida como “Guaco”, é empregada no tratamento de tosses e bronquites no Brasil (NEVES & SÁ, 1991). A Mikania

glomerata tem efeitos terapêuticos conhecidos, tais como antifúngico, antimicrobiano, broncodilatador, antialérgico e antiinflamatório (FIERRO et al.,1999; HOLETZ et al.,2002). De acordo com a tradição popular, é também usada como antídoto contra veneno de certas serpentes e escorpiões e contra artrites (CORRÊA, 1984).

A Mikania glomerata é tanto usada na intoxicação por Crotalus durissus terrificus quanto por Bothrops jararacussu. A planta mostrou ações anti-edema, anti-hemorrágica, anti-fosfolipase A2 (SOARES, 2005).

O estudo químico da Mikania glomerata mostra as seguintes substâncias isoladas: cumarina (1,2-benzopirano), ácido caurenóico, ácido cinamolglandiflóroco, estigmasterol, friedelina, e lupeol (OLIVEIRA et al., 1984; VILEGAS et al., 1997; VENEZIANI et al., 1999). A cumarina (1,2-benzopirano) é o constituinte majoritário do vegetal e principal princípio ativo que contribui para o efeito farmacológico.

Pereira et al. (1994) estudaram a atividade antiofídica da cumarina extraída da Mikania glomerata Sprengel frente ao veneno da jararaca (Bothrops jararaca). A sobrevivência dos animais foi avaliada em 6, 24 e 48 horas e registrada em porcentagem de animais vivos. Os animais que foram tratados com a cumarina apresentaram taxas de sobrevivência de 80%, 50% e 40%, respectivamente, enquanto, o grupo controle apresentou para os mesmos intervalos taxas de 30%, 0% e 0% de sobrevivência, respectivamente.

Maiorano et al. (2005) observaram a capacidade do extrato aquoso de Mikania glomerata em inibir as atividades farmacológicas e enzimáticas dos venenos crotálico e botrópico in vitro. A atividade da fosfolipase A2 (PLA2) induzida pelo veneno crotálico foi inibida completamente, já no veneno botrópico essa inibição não foi observada. O extrato mostrou-se efetivo, também, para a redução na formação de edema e também teve efeitos anti-hemorrágicos.

Um tratamento muito usado no interior do Brasil, principalmente em zonas rurais afastadas de grandes centros, é o “Específico Pessoa”, que é um extrato vegetal usado como antiveneno, porém, comprovadamente sem eficácia na neutralização do veneno de Bothrops atrox. Este extrato vegetal foi prescrito por profissionais das Unidades de Saúde dos municípios, no estado do Amazonas onde na cidade de Silves, em 33,3% dos casos de ofidismo

foram prescrito o “Especifico Pessoa”, Boa Vista dos Ramos (20%), Autazes (14,7%), Maués (2,5%) e Humaitá (1,7%) (BORGES et al., 1999).

O prognóstico do acidente ofídico é altamente dependente do grau do envenenamento, local da picada e resposta individual do animal acidentado. A busca mais rápida pelo veterinário e a opção por tratamento precoce podem alcançar um melhor resultado (PETERSON, 2006).

O prognóstico dos acidentes crotálicos leves e moderados pode ser favorável nos animais atendidos nas primeiras seis horas após a picada (CARDOSO, 1990). Soerensen et al. (1993), em estudo com camundongos, concluíram que a soroterapia específica deve ser feita pela via intravenosa o mais precocemente possível, para evitar as ações deletérias do veneno sobre o organismo animal.

Nos acidentes ofídicos graves, o prognóstico está vinculado à existência ou não de insuficiência renal aguda, sendo reservado quando há necrose tubular aguda (CARDOSO & BRANDO, 1982).

Os acidentes ofídicos requerem cuidados médicos urgentes. Atualmente, o único tratamento cientificamente validado é a soroterapia. Mesmo sendo o tratamento recomendado, ainda apresenta algumas desvantagens, como: (1) limitado ou nenhum acesso ao soro antiofídico na zona rural, de países em desenvolvimento, onde a maioria dos acidentes acontece; (2) variações significantes na composição do veneno e reatividade antigênica devido às diversidades de serpentes que podem causar limitações durante a soroterapia; (3) possibilidade de ocorrência de reações adversas em pacientes devido à infusão de proteínas animais; e (4) efetividade limitada da soroterapia para proteger os efeitos prejudiciais no local da picada. Assim, a procura contínua e identificação de novas combinações que possam ser úteis como terapia alternativa ou complementar na intoxicação por veneno de serpente é uma tarefa pertinente (SOARES, 2005).

Objetivo

3. OBJETIVOS

Face à escassez de maiores informações a respeito de terapêuticas complementares para os acidentes por Bothrops jararaca e Crotalus durissus terrificus, este trabalho teve por objetivos:

Geral:

- Estudar as avaliações física, laboratorial e histopatológica de ratos Wistar intoxicados com veneno botrópico ou crotálico submetidos ao tratamento com soro antiofídico e extrato aquoso de Mikania glomerata.

Específicos:

- avaliar a eficácia de dois protocolos terapêuticos em ratos intoxicados com veneno de Bothrops jararaca ou Crotalus durissus terrificus:
    1. soro antiofídico botrópico-crotálico

    2. soro antiofídico botrópico-crotálico + três administrações de extrato aquoso de Mikania glomerata, no intervalo de duas horas entre as administrações

- avaliar as alterações clínicas, de hemograma, uréia, creatinina e creatina quinase séricas em ratos intoxicados experimentalmente com o veneno de Bothrops jararaca e tratados com os protocolos terapêuticos acima citados.

- avaliar as alterações clínicas, de hemograma, uréia, creatinina e creatinoquinase séricas em ratos intoxicados experimentalmente com o veneno de Crotalus durissus terrificus e tratados com os protocolos terapêuticos acima citados

- avaliar a eficácia do extrato aquoso de Mikania glomerata na neutralização dos efeitos causados pelo veneno botrópico

- avaliar a eficácia do extrato aquoso de Mikania glomerata na neutralização dos efeitos causados pelo veneno crotálico

- avaliar as alterações microscópicas de tecido muscular esquelético e rim de ratos inoculados com o veneno de Bothrops jararaca

- avaliar as alterações microscópicas de tecido muscular esquelético e rim de ratos inoculados com o veneno de Crotalus durissus terrificus

Material e Métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL

O experimento foi realizado no Biotério central da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE, Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Presidente Prudente-SP.

O estudo foi realizado de acordo com os Princípios Éticos e aprovado pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia- UNESP - Campus de Botucatu.

4.2 ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar, fêmeas, pesando entre 150 a 300g, provenientes do Biotério Central da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE de Presidente Prudente-SP.

4.2.1 MANEJO DOS ANIMAIS

Os ratos foram mantidos em gaiolas metabólicas com grades de aço cromado e com lotação de 1 animal por gaiola (figura 3) por um período de três a sete dias antes do início do experimento no biotério de experimentação, no Biotério central da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE. O ambiente teve controle de luz (ciclo de 12 horas) e de temperatura constante (25°C), umidade do ar de 55-65% e tempo de exaustão de 10 trocas de ar da sala/hora. Água[1] e ração comercial seca[2] foram fornecidas ad libitum.

---

[1]Sabesp

[2]Purina - Roedores



FIGURA 3 – Gaiolas metabólicas

4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

4.3.1 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram constituídos dois grupos, veneno crotálico (VC) e veneno botrópico (VB), e cada grupo foi dividido em três subgrupos experimentais (Grupos 1, 2 e 3) com 18 animais em cada grupo sendo:

- grupo 1: inoculado com solução fisiológica;
- grupo 2: inoculado com veneno da serpente Bothrops jararaca ou Crotalus durissus terrificus, via intramuscular, e tratado com soro antibotrópico-crotálico, via intraperitoneal;
- grupo 3: inoculados com veneno da serpente Bothrops jararaca ou Crotalus durissus terrificus, via intramuscular, e tratados com soro antibotrópico-crotálico, via intraperitoneal e extrato aquoso de Mikania glomerata através de gavage em três aplicações com o intervalo de duas horas entre administrações;

4.3.2 MOMENTOS

Cada subgrupo foi separado em grupos de seis animais para cada momento de avaliação.

Momentos de avaliação:

- M1 – 30 minutos após a inoculação do veneno botrópico ou crotálico;
- M2 – 6h após a inoculação do veneno botrópico ou crotálico;
- M3 – 24h após a inoculação do veneno botrópico ou crotálico;

Obs_1: o soro antiofídico foi administrado 6 horas após a inoculação do veneno.
Obs_2: o extrato de Mikania glomerata foi administrado através de gavage entre os momentos M1 e M2, sendo que a administração do extrato ocorreu de duas em duas horas após a inoculação do veneno, em um total de três administrações.

4.3.3 AVALIAÇÃO CLÍNICA

o Foram avaliados temperatura retal, freqüência cardíaca (bpm), freqüência respiratória (mpm), locomoção e grau de sedação em cada momento de avaliação. A atividade edematogênica foi avaliada com auxílio de um paquímetro em cada momento de avaliação e o edema foi calculado como diferença do diâmetro entre os membros direito e esquerdo dos ratos controles e os mesmo membros dos ratos dos grupos experimentais.

Obs.$_1$ O grau de sedação foi dado por escores onde: leve/ausente – o animal não apresentava sinais ou pouco sinais de sedação, moderado - o animal apresentava sinais sedação evidentes mas respondia a estímulos e grave o animal não respondia a estímulos.
Obs.$_2$ Locomoção foi avaliada por escores, como presente ou ausente.

4.3.4 EXAMES LABORATORIAIS

- Foram realizados observação de coagulação, hemograma e bioquímica sérica (uréia, creatinina, CK) que foram avaliados de acordo com os métodos adotados na rotina do Laboratório Clínico do Hospital Veterinário (HV) da UNOESTE, e o sangue dos animais foi coletado por punção intracardíaca, uma única vez.

Obs. A observação da coagulação foi feita como o uso de capilar e descrita por meio de escores onde: coagulou – o sangue no interior do capilar apresentava coágulo e não coagulou – o sangue no interior do capilar se mostrava incoagulável após 30 minutos da colheita que foi realizada pela ponta da cauda.

4.3.5 HISTOPATOLOGIA

- Foram submetidos à eutanásia 6 animais em cada momento de avaliação. Para tal procedimento, foi utilizado Tiopental sódico na dose de 150mg/kg, via intraperitoneal.
- Foram colhidas amostras de rins e tecido muscular. Foi realizada avaliação microscópica pelo Serviço de Patologia Veterinária do HV da UNOESTE, com os métodos usados da rotina deste serviço.

4.4 INOCULAÇÃO DO VENENO E TRATAMENTO

Os venenos das serpentes Bothrops jararaca e Crotalus durissus terrificus foram fornecidos pelo CEVAP (Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus Botucatu-SP (Figura 4).

Os venenos foram obtidos por compressão das glândulas, e posteriormente liofilizados e mantidos a 20^{o}C negativos, sendo dissolvidos em solução salina estéril[1] no momento da administração para obter a concentração de 5 mg/mL.

A inoculação do veneno foi feita no terço médio da face lateral do membro posterior esquerdo do rato, com agulha hipodérmica (13x5,5)[2] e seringa descartável de 1mL[3] , na dose de 10mg/kg (dose encontrada em experimento piloto) de peso vivo, pela via intramuscular, após a tricotomia e anti-sepsia local. Os ratos do grupo controle recebiam solução fisiológica[1] no lugar do veneno.



FIGURA 4 – Venenos de Bothrops jararaca e Crotalus durissus terrificus cedidos pelo CEVAP- UNESP- Botucuatu.



FIGURA 5 – Soro antiofídico (botrópico-crotálico)[4].

A soroterapia foi realizada por via intraperitoneal com soro antiofídico (botrópico-crotálico[4]), comercializado em ampolas de 10mL (Figura 5).

---

[1] Solução Fisiológica de Cloreto de Sódio 0,9% Halex e Istar Ltda

[2] Agulha 13x5,5 Becton Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda, Brasil

[3] Seringa de 1mL BD – Becton Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda, Brasil

[4] Soro antibotrópico-crotálico – Vencofarma®

Foi administrada a dose do soro antiofídico, nos grupos 2 e 3 conforme a recomendação do fabricante para neutralizar a quantidade de veneno inoculada (10 mg/kg), seis horas após a inoculação do veneno botrópico ou crotálico. Os animais do grupo 3 foram submetidos à gavage com 1 mL do extrato aquoso de Mikania glomerata na concentração de 10% a cada 2 horas desde a inoculação do veneno até o tratamento com soroterapia, totalizando três administrações.

O extrato aquoso de Mikania glomerata foi preparado pelo Laboratório de Farmacologia da Faculdade Adamantinense Integrada – FAI, Adamantina-SP. Foram colhidas as folhas do guaco (Mikania glomerata) o qual foi cultivado em área preparada e sob observação constante. A preparação do extrato foi realizada de acordo com a Farmacopéia Brasileira. A solução aquosa foi utilizada na concentração de 10% e administrada via oral na dose de 1mL a cada duas hora, totalizando três administrações. O grupo controle recebeu água nos mesmos momentos por gavage.

Obs. Os animais controle recebiam solução fisiológica por via intraperitoneal e água por gavage no mesmo momento em que os animais dos outros grupos recebiam soro antiofídico e também extrato de Mikania glomerata.

4.5 COLHEITA DE MATERIAL

4.5.1 SANGUE TOTAL

A colheita de sangue para observação de coagulação foi realizada pela cauda.

As amostras de sangue foram colhidas por meio de punção intracardíaca (figura 6) e estas foram acondicionadas de acordo com o exame laboratorial a ser realizado.

Para hemograma e proteína plasmática total, foi utilizado vacutainer para hemograma ,de 5 mL[1], na colheita de sangue.

Para a dosagem bioquímica de uréia e creatinina, foi utilizado vacutainer para bioquímico, de 10 mL[2].



FIGURA 6 – Colheita de sangue por cardiocentese

[1] Vacutainer para hemograma -BD

[2] Vacutainer para bioquimico - BD

4.6 EXAMES LABORATORIAIS

4.6.1 HEMOGRAMA

O eritrograma consistiu da contagem total de eritrócitos em contador eletrônico de células[1]. A dosagem de hemoglobina foi feita pelo método da cianometahemoglobina, utilizando o mesmo contador de células[1] e a determinação do volume globular pelo método de microhematócrito.[2] A proteína plasmática total foi determinada por refratometria[3] e a dosagem do fibrinogênio plasmático foi feita pela técnica de precipitação pelo calor (KANEKO et al., 1997)

A contagem total de leucócitos foi realizada em contador automático de células, e a contagem diferencial de leucócitos foi realizada em 100 células em esfregaços corados com Panótico rápido[4] (JAIN, 1986).

4.6.2 EXAMES BIOQUÍMICOS

As amostras de soro para realização dos exames bioquímicos foram obtidas por centrifugação do sangue. As amostras foram mensuradas para: uréia[5] pelo método da urease, creatinina[6] pelo método cinético de tempo fixo utilizando picrato alcalino e CK[7] pelo método Okinaka modificado.

[1] CELM – CC-530

[2] Micro EULAB – Modelo 024

[3] AST – Japan

[4] LABOR-CLIN

[5] Uréia – Kit Labest- Lagoa Santa - MG

[6] Creatinina –Kit Bioclin- Belo Horizonte-MG

[7] CK – Kit Doles – Goiânia - GO

4.7 HISTOPATOLOGIA

Foram submetidos à eutanásia 6 animais no momento M3 de cada grupo. Para tal procedimento, foi utilizado Tiopental[1] na dose de 150 mg/kg, pela via intraperitoneal (figura 7). Em seguida foi feita uma punção intracardiaca, para a coleta de sangue para exames laboratoriais, o mesmo procedimento para os outros momentos.



FIGURA 7 – Aplicação do anestésico (Tiopental [1])

Foram colhidas amostras de rim, para avaliação de degeneração hidrópica renal, necrose tubular aguda, congestão e hemorragia, e musculatura esquelética do membro posterior esquerdo, para avaliação das lesões como: degeneração, necrose de coagulação, regeneração de fibra, edema, congestão e hemorragia.

As amostras colhidas foram fixadas em solução de formalina tamponada a 10%, e em seguida, clivadas e submetidas a processamento histológico de rotina para inclusão em parafina e cortes em micrótomo rotativo a 5μ. Os cortes foram corados pela hematoxilina-eosina (HE) e examinados à microscopia óptica[2].

[1] Tiopental sódico – Tionembutal - Cristália

[2] Microscópio Nikon® Microscope, 400X and 1,000X magnification

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados paramétricos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade para a comparação entre os grupos e momentos, para cada veneno estudado (BANZATTO & KRONKA, 2006). Os dados descritos por escores ou gravidade foram submetidos a uma análise descritiva.

Resultados

5. RESULTADOS

5.1. OBSERVAÇÕES CLÍNICAS DA INTOXICAÇÃO POR VENENO BOTRÓPICO

Os animais que foram inoculados com o veneno botrópico apresentaram desconforto, inquietação e retração do membro onde foi inoculado o veneno. Alguns animais apresentaram cromodacriorréia (Figura 8) em diferentes momentos de avaliação.



FIGURA 8 - Animal apresentando cromodacríorréia.

5.1.1 TEMPERATURA

Os valores individuais da temperatura dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 4).

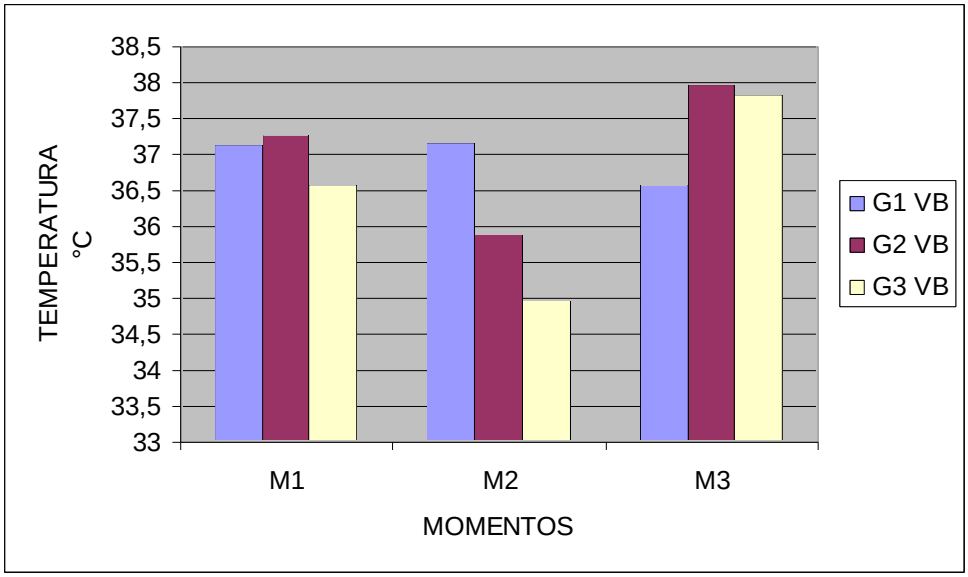
A tabela 2 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da temperatura dos animais dos vários grupos que foram inoculados com o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 2 ilustra os valores médios da temperatura dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

TABELA 2 - Valores das médias e desvio padrão de temperatura (°C) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após inoculação do veneno botrópico em diferentes momentos, em ratos.

Temperatura	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1 (30 min após inoculação)	37,13 ±0,196 Aa	37,267 ±1,335 Aa	36,583 ±1,425 Aab
M2 (6 h após inoculação)	37,17 ±0,314 Aa	35,733 ±0,902 Ba	34,967 ±1,260 Bb
M3 (24 h após inoculação)	36,583 ±0,785 Aa	37,967 ±2,302 Aa	37,817 ±0,667 Aa

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Temperatura 35,9°C – 37,5°C (UNOESTE, 2008)

GRÁFICO 2 - Valores das médias da temperatura (°C) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico.



Não houve diferença estatística significativa (p>0,05) desta variável entre os momentos M1 de cada grupo, dos grupos G1 VB e do G2 VB e G3 VB. Também não houve diferença estatística significativa entre os momentos M3 nos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB. Porém, houve diferença estatisticamente significativa (p<0,05) entre os momentos M2 dos grupos G1 VB G2 VB e G3 VB, sendo que no grupo G1 VB, o valor é estatisticamente maior do que o

mesmo momento no grupo G2 VB e este é estatisticamente maior que o grupo G3 VB.

Não houve diferença estatística significativa (p>0,05) entre os diferentes momentos de avaliação da temperatura nos grupos G1 VB e G2 VB. Houve diferença significativa (p<0,05) no G3 VB entre os momentos M2 e M3 e entre o M1 e M3. Os animais apresentaram valores médios significativamente menores da temperatura no M1 e M2 em comparação aos momentos M3 deste grupo.

5.1.2 FREQÜÊNCIA RESPIRATÓRIA

Os valores individuais da freqüência respiratória dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 5).

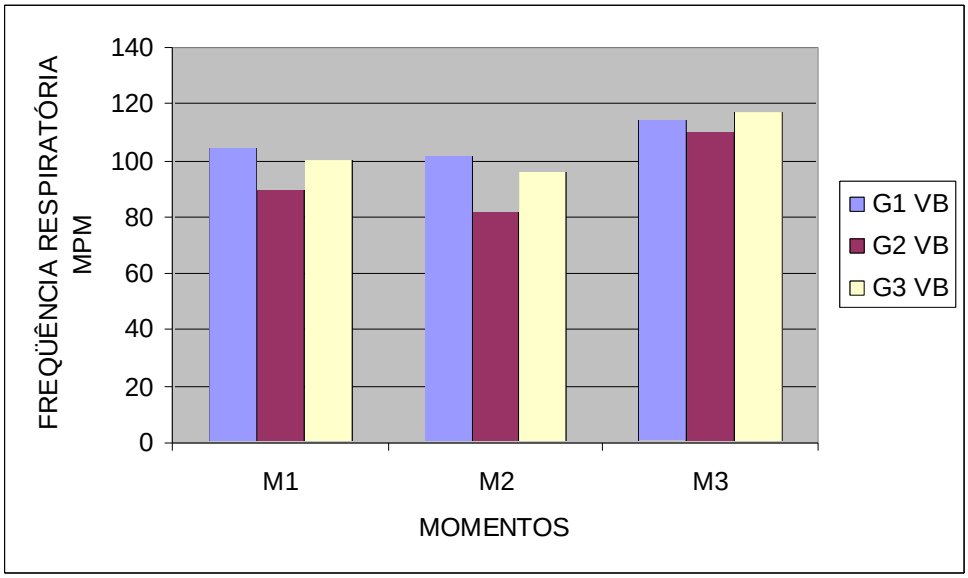
A tabela 3 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da freqüência respiratória dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 3 ilustra os valores médios da freqüência respiratória dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

TABELA 3 - Valores das médias e desvio padrão de freqüência respiratória (mpm) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.

Freqüência respiratória	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	104,33 ±17,363 Aa	89,83 ±30,162 Aa	100,67 ±10,482 Aa
M2	101,67 ±17,546 Aa	81,83 ±16,473 Aa	96,00 ±11,866 Aa
M3	114,67 ±24,606 Aa	110,33 ±22,571 Aa	117,67 ±14,882 Aa

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Freqüência respiratória 70 – 120 mpm (UNOESTE, 2008)

GRÁFICO 3 - Valores das médias da freqüência respiratória (mpm) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico.



Não houve diferença estatisticamente significativa (p>0,05) desta variável entre os momentos dos diferentes grupos.

Dentre os momentos em cada grupo, não houve também diferença estatística significativa (p>0,05).

5.1.3 FREQÜÊNCIA CARDÍACA

Os valores individuais da freqüência cardíaca (bpm) dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 6).

A tabela 4 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da freqüência cardíaca dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 4 ilustra os valores médios da freqüência cardíaca dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

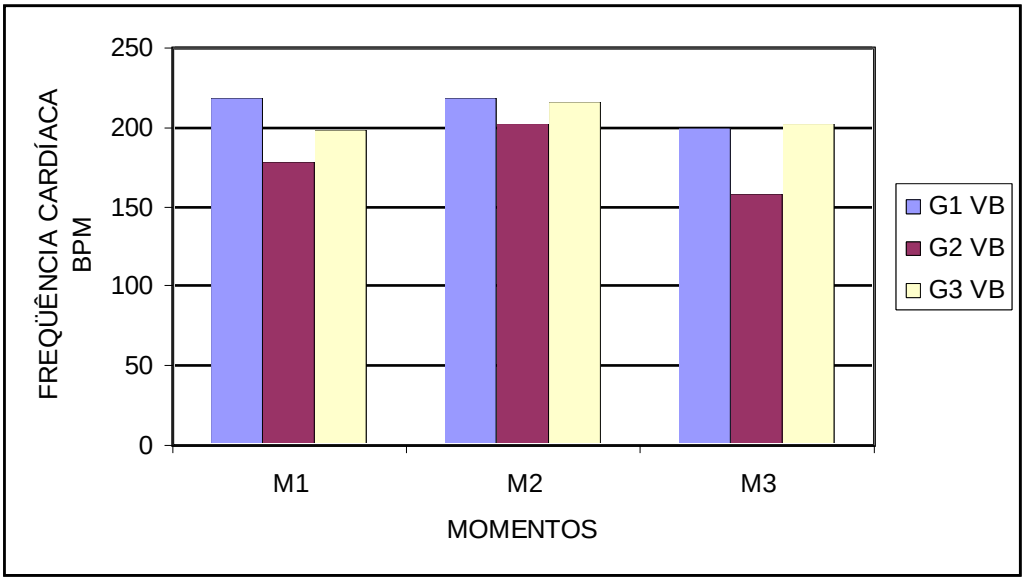
TABELA 4 - Valores das médias e desvio padrão de freqüência cardíaca (bpm) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.

Freqüência Cardíaca	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	218,00 ±11,24 Aa	178,00 ±30,85 Aa	198,67 ±24,35 Aa
M2	218,67 ± 13,06 Aa	202,67 ±28,91 Aa	216,33 ±9,33 Aa
M3	200,33 ±14,33 Aa	154,33 ±63,65 Aa	202,00 ±12,83 Aa

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Freqüência cardíaca 215 – 450 bpm (UNOESTE, 2008)

GRÁFICO 4 - Valores das médias da freqüência cardíaca (bpm) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico.



Não houve diferença estatística significativa (p>0,05) entre os momentos dentro de cada grupo e entre os momentos dos diferentes grupos.

5.1.4 EDEMA DE MEMBRO DIREITO

Os valores individuais do edema de membro direito (EDMD) dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 7).

A tabela 5 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, do edema de membro direito dos animais dos grupos, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 5 ilustra os valores médios do edema de membro direito dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

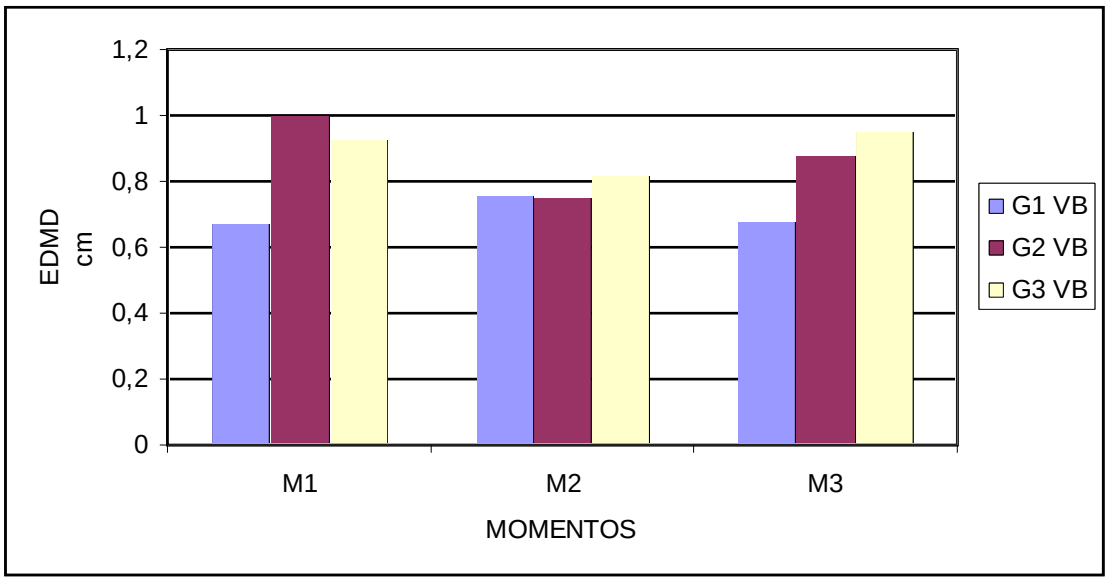
TABELA 5 - Valores das medias e desvio padrão de edema de membro direito (cm) e comparação das médias pelo teste de Tukey em ratos.

EDMD	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	0,67 ±0,081 Ba	1,00 ±0 Aa	0.933 ±0,150 Aa
M2	0,77 ±0,081 Aa	0,75 ±0,151 Ab	0,82 ±0,075 Aa
M3	0,68 ±0,075 Ba	0,88 ±0,07 AB ab	0,95 ±0,216 Aa

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

GRÁFICO 5 - Valores das médias do EDMD (cm) dos ratos em diferentes momentos.



Não houve diferença estatística significativa (p>0,05) entre os momentos no grupo G1 VB e no grupo G3 VB. No entanto, no grupo G2 VB, houve diferença estatística significante entre o momento M1 quando comparado com o momento M2, sendo que o valor médio do M1 do grupo G2 VB é estatisticamente maior do que no momento M2 do G2 VB. O momento M3 não difere estatisticamente dos momentos M1 e M2.

Entre os momentos dos diferentes grupos, não houve diferença estática significativa (p>0,05) no momento M2 dos grupos G1 VB, G2 VB e o G3 VB. No entanto, no momento M1, entre grupo G1 VB e os G2 VB e G3 VB, houve diferença, sendo que o grupo G1 tem o valor médio estatisticamente menor (p<0,05) do que os grupos G2 VB e G3 VB. Houve diferença estatística significativa no momento M3 entre os grupos G1 e o G3, sendo que o primeiro foi estatisticamente menor que o segundo e estes momentos quando comparados com o momento M3 do grupo G2 VB não houve diferença estatística.

5.1.5 EDEMA DE MEMBRO ESQUERDO (EDME)

Os valores individuais do edema de membro esquerdo dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 8).

A tabela 6 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, do edema de membro esquerdo dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 6 ilustra os valores médios do edema de membro esquerdo (EDME) dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

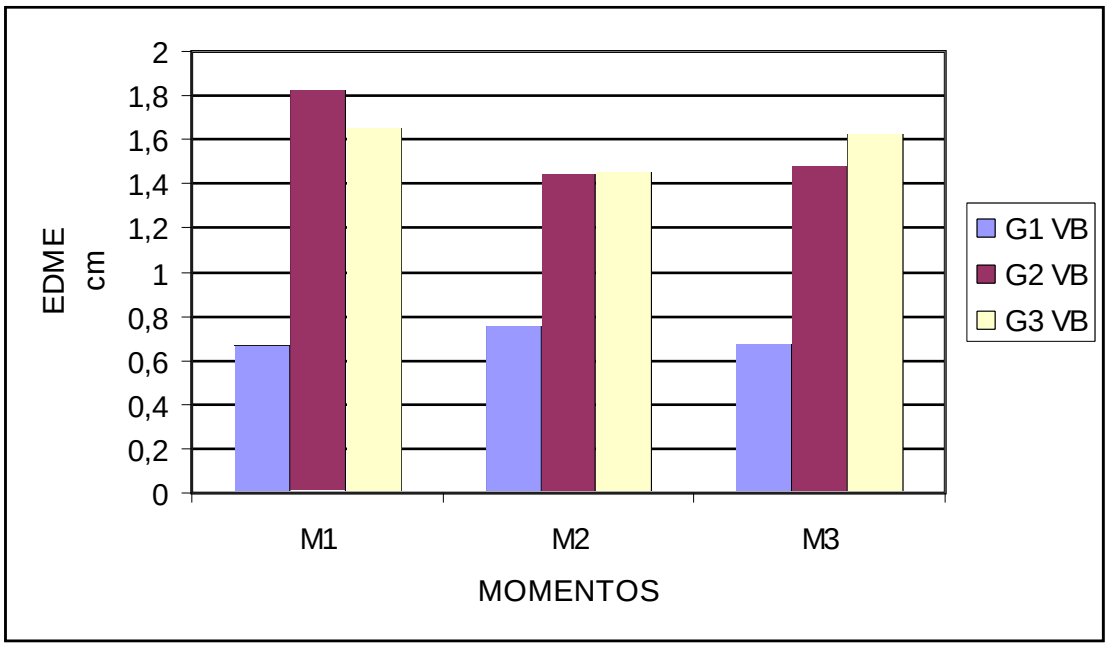
TABELA 6 – Valores das médias e desvio padrão de edema de membro esquerdo (EDME) (cm) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.

EDME	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	0,77 ±0,1033 Ba	1,83 Aa ±0,1033	1,667 Aa ±0,1033
M2	0,88 ±0,1602 Ba	1,45 Ab ±0,2588	1,47 Ab ±0,05
M3	0,77 ±0,08165 Ba	1,48 Ab ±0,1835	1,63 Aab ±0,16

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

GRÁFICO 6 - Valores das médias do EDME (cm) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico.



Não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$) entre os momentos no grupo G1 VB. No entanto, no grupo G2 VB, houve diferença estatística significante ($p<0,05$) entre os momentos M1 quando comparado com os momentos M2 e M3, sendo que no momento M1, o valor médio é estatisticamente maior do que no momento M2 e M3, e no grupo G3 VB, o momento M1, foi estatisticamente maior ($p<0,05$) que o momento M2.

Entre os momentos dos diferentes grupos, houve uma diferença estatística significativa nos momentos do grupo G1 VB quando comparados com os dos grupos G2 VB e G3 VB, sendo que os valores médios dos momentos do grupo G1 VB são estatisticamente menores do que nos mesmos momentos do G2 VB e do grupo G3 VB. Não houve diferença estatística significativa entre os momentos do grupo G2 VB e G3 VB.

A figura 9 mostra os diferentes momentos de avaliação após a inoculação do veneno botrópico em rato Wistar.



FIGURA 9 Edema do membro em vários momentos após a inoculação do veneno Botrópico – A = 30 minutos após inoculação, B = 6 horas após inoculação e C = 24 horas após inoculação.

5.1.6 LOCOMOÇÃO

Foi avaliada a locomoção por meio de escores, onde significa, 1 - indica locomoção presente, 2 – locomoção ausente. Todos os animais em todos os grupos e momentos apresentaram escore 1.

5.1.7 GRAU DE SEDAÇÃO

O grau de sedação foi avaliado por meio de escores onde (1) representa sedação leve ou ausente, (2) sedação moderado, onde o animal apresenta

sedação evidente, mas responde a estímulos e (3) sedação grave, onde o animal não responde a estímulos. No grupo G2 VB, no momento M3, 2 animais apresentaram grau de sedação moderado (2) e no grupo G3 VB, 2 animais apresentaram grau de sedação moderado (2) no momento M2.

Os escores individuais do grau de sedação dos animais dos grupos estão anexos (ANEXOS – Quadros 17,18,19).

5.1.8 OBSERVAÇÃO DE COAGULAÇÃO

A cada momento, foi observado se havia ou não presença de coagulação. Os animais foram avaliados por meio de escores onde (1) presença e (2) ausência.

Apenas 3 animais do grupo G2 VB, no momento M2 e 3 animais do grupo G3 VB no momento M2 não apresentaram coagulação ao exame.

Os escores individuais da observação de coagulação dos animais dos grupos estão anexos (ANEXOS – Quadros 20,21,22).

5.2. OBSERVAÇÕES LABORATORIAIS DO VENENO BOTRÓPICO

5.2.1 URÉIA

Os valores individuais da uréia dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 9).

A tabela 7 mostra os valores das médias e desvio padrão e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da uréia dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 7 ilustra os valores médios da uréia dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

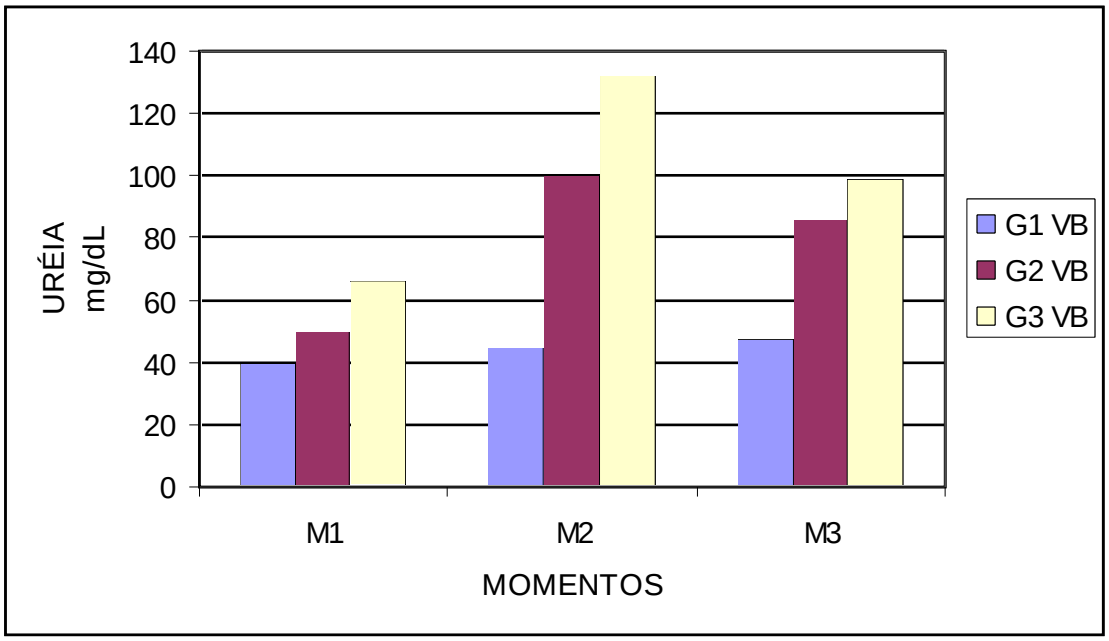
TABELA 7 – Valores médios e desvio padrão de uréia (mg/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.

Uréia	G1 VB controle	G2 VB veneno + soro antiofídico	G3 VB veneno +soro antiofídico + extrato
M1 30 min após inoculação	39,90 ±15,599 Ba	50,15 ±8,81 Ab	66,417 ±9,1 Aa
M2 6 h após inoculação	44,90 ±11,72 Ba	100,00 ±23,56 Aa	132,2 ±54,39 Aa
M3 24 h após inoculação	47,68 ±1,85 Aa	85,93 ±57,93 Aa	98,76 ±88,77 Aa

a, b – em cada lcoluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Valores de Referência UNOESTE, 2008.

GRÁFICO 7. Valores das médias da uréia (mg/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico.



Não houve diferença estatística significativa (p>0,05) entre os momentos no grupo G1 VB e no grupo G3 VB. Mas no grupo G2 VB houve diferença estatística significante entre os momentos M1 quando comparado ao M2 e M3, sendo que o momento M1 é estatisticamente menor do que o momento M2 e M3.

Entre os momentos dos diferentes grupos, houve uma diferença estatística significativa no momento M1 do grupo G1 VB quando comparado com o momento M1 dos grupos G2 VB e G3 VB, sendo que o grupo G1 VB tem o menor valor médio. O valor de uréia no momento M2 do grupo G1 VB é estatisticamente menor que os momentos M2 dos grupos G2 VB e G3 VB. O momento M2 do grupo G2 VB é estatisticamente menor do que o momento M2 do grupo G3 VB. No momento M3, não houve diferença estatística significativa (p>0,05) entre os grupos.

5.2.2 CREATININA

Os valores individuais da creatinina dos animais dos grupos estão anexos (ANEXOS – Quadros 10).

A tabela 8 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da creatinina dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 8 ilustra os valores médios da creatinina dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

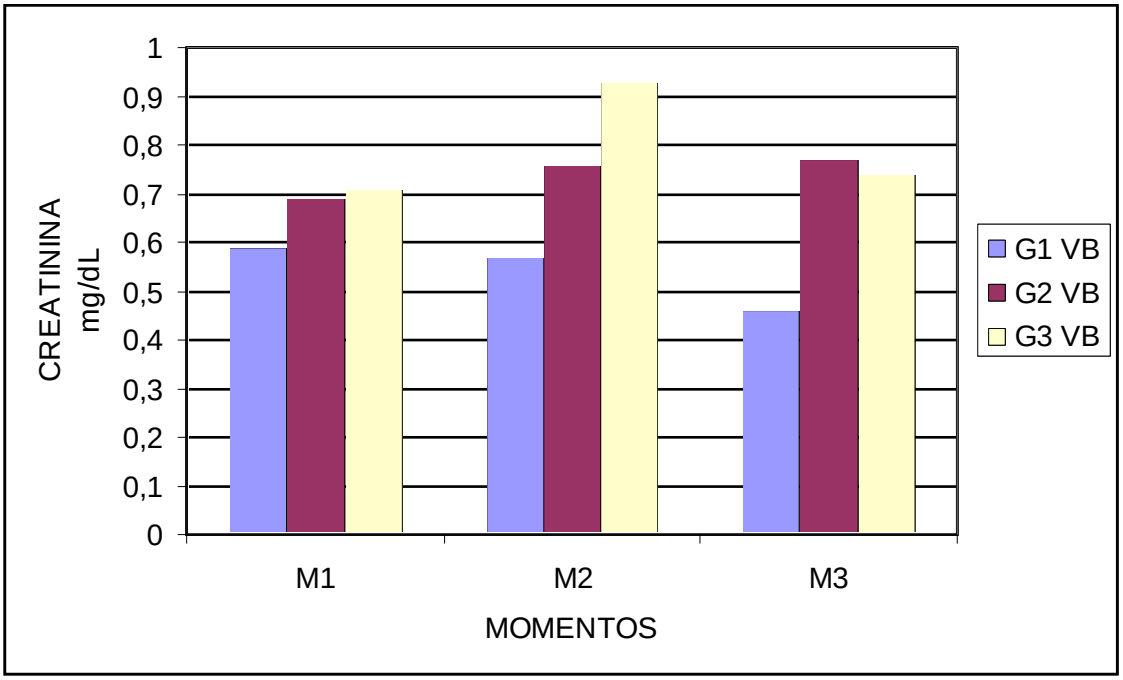
TABELA 8 – Valores médios e desvio padrão de creatinina (mg/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.

Creatinina	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	0,59 ±0,05 Aa	0,69 ±0,13 Aa	0,71 ±0,07 Aa
M2	0,57 ±0,04 Ba	0,76 ±0,12 Aa	0,93 ±0,36 Aa
M3	0,46 ±0,05 Bb	0,77 ±0,14 Aa	0,74 ±0,09 Aa

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Valores de referência UNOESTE, 2008.

GRÁFICO 8 - Valores das médias da creatinina (mg/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico.



Não houve diferença estatística significativa (p>0,05) entre os momentos nos grupos G2 VB e G3 VB. No entanto, no grupo G1 VB, houve diferença estatística significante (p<0,05) entre o momento M3 quando comparado M1 e

M2 do mesmo grupo, sendo que no momento M3 o valor médio é menor estatisticamente do que no momento M1 e M2.

Entre os momentos dos diferentes grupos, não houve diferença estatística significativa (p>0,05) no momento M1 do grupo G1 VB quando comparado com o dos grupos G2 VB e G3 VB. O momento M2 do grupo G2 VB não é diferente estatisticamente quando comparado ao mesmo momento dos grupos G1 VB e G3 VB. O momento M2 do grupo G1 VB mostrou-se significativamente menor que o mesmo momento no G3 VB. O momento M3 do grupo G1 VB mostrou-se significativamente menor (p<0,05) do que nos mesmos momentos no grupo G2 VB e G3 VB.

5.2.3 CREATINA QUINASE (CK)

Os valores individuais da creatina quinase (CK) dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 11).

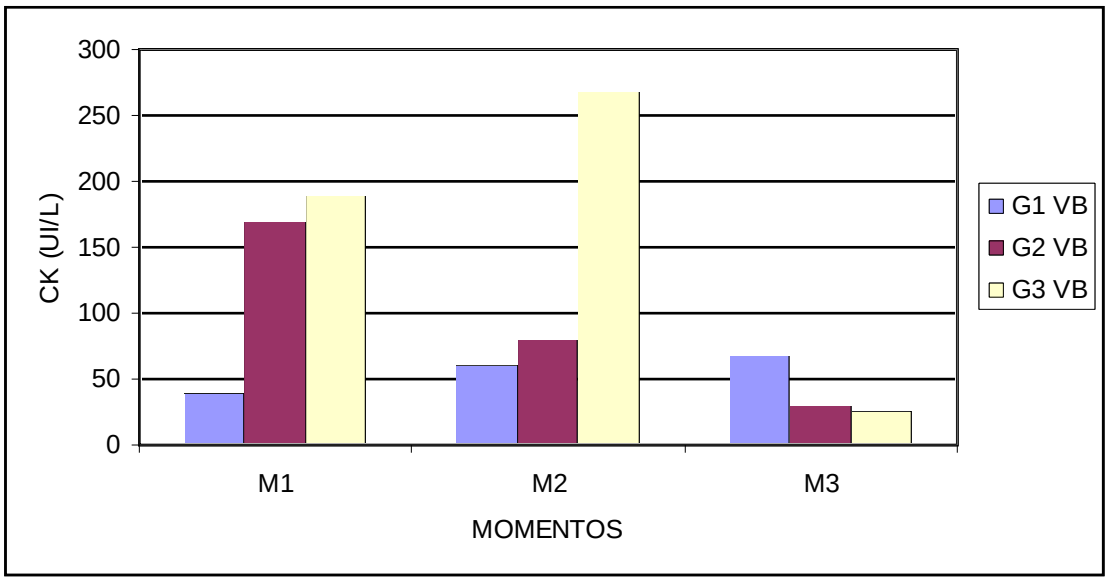
A tabela 9 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da creatina quinase (CK) dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 9 ilustra os valores médios da creatina quinase dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

TABELA 9 - Valores médios e desvio padrão de Creatina quinase (CK) (UI/L) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após inoculação do veneno botrópico, em ratos.

CK	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	38,9 ±24,02 Ba	168,97 ±101,86 Aa	190,00 ±70,89 Aa
M2	60,5 ±36,65 Ba	80,30 ±9,51 Aab	267,87 ± 122,51 Aa
M3	68,05 ±33,42 Aa	30,53 ±10,85 Ab	25,18 ± 17,13 Ab

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05) Valores de referência UNOESTE, 2008.

GRÁFICO 9 - Valores das médias da creatina quinase (UI/L) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico.



Entre os momentos no mesmo grupo, houve diferença estatística no grupo G2 VB entre o momento M1 e os momentos M2 e M3, sendo que o momento M1 é estatisticamente maior que os momentos M2 e M3. No grupo G3 VB, houve diferença entre os momentos M1 e M2 quando comparados com o momento M3, sendo que os momentos M1 e M2 foram estatisticamente maiores que o M3. No grupo G1 VB, não houve diferença estatística significante ($p>0,05$) entre os momentos.

Entre os momentos dos diferentes grupos, houve uma diferença estatística significativa no momento M1 do grupo G1 VB quando comparado com o momento M1 do grupo G2 VB e G3 VB, sendo o momento M1 do grupo G1 VB estatisticamente menor do que o mesmo momento nos grupos G2 VB e G3 VB. O momento M3 não apresentou diferença estatística entre os grupos. O momento M2 do grupo G3 VB mostrou-se significativamente maior que os mesmo momentos no G1 VB e no grupo G2 VB ($p< 0,05$).

5.2.4 NÚMERO DE HEMÁCIAS

Os valores individuais do numero de hemácias dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 12).

A tabela 10 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, do número de hemácias dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 10 ilustra os valores médios do número de hemácias dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

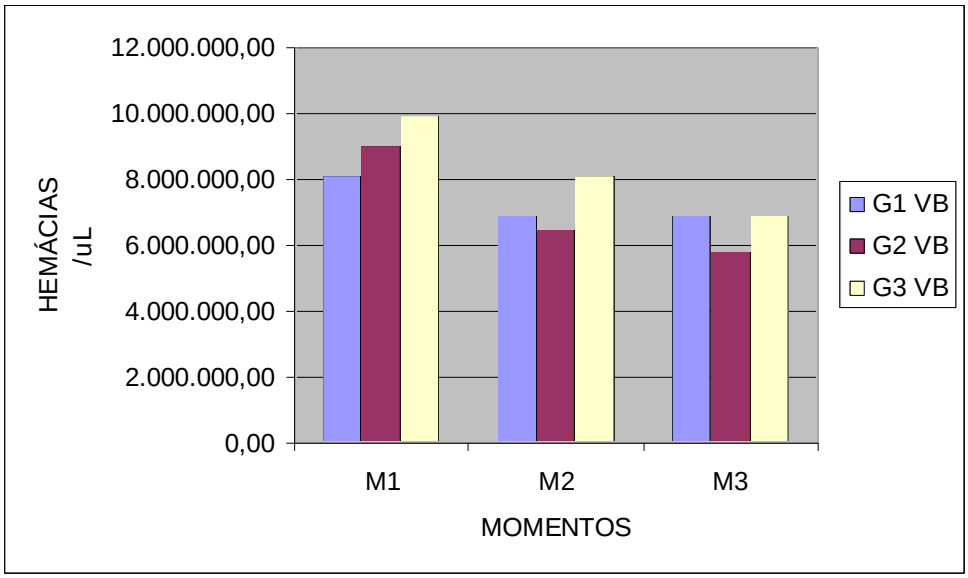
Tabela 10 - Valores médios e desvio padrão de hemácias (/μL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.

Hemácias	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	8.111.666,67 ±469.656 Ba	9.048.333,33 ±900.298 ABa	9.936.667 ±628.511 Aa
M2	6.930.000,00 ±386.057 ABb	6.496.666,67 ±583.461 Bb	8.108.333,33 ±508.937 Ab
M3	6.890.000,00 ±261.304 Ab	5.826.000,00 ±838.037 Ab	6.930.000,00 ±1.306.782 Ab

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Hemácias 5.430.000,00 – 10.430.000,00 (UNOESTE, 2008).

GRÁFICO 10 - Valores das médias das hemácias (/μL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico



Houve diferença estatística ($p<0,05$), no grupo G3 VB, entre o momento M1 quando comparado com os momentos M2 e M3, sendo que esses são estatisticamente menores. Também no grupo G2 VB, o momento M1 é estatisticamente ($p<0,05$) maior que os momentos M2 e M3, e esses não diferem entre si. No grupo G1 VB, o momento M1 é estatisticamente ($p<0,05$) maior que os momentos M2 e M3, e estes não diferem entre si.

Entre os mesmos momentos em grupos diferentes, o momento M1 do grupo G1 VB não teve diferença estatística do momento M1 do grupo G2 VB. No entanto, o momento M1 do grupo G1 VB tem o valor médio estatisticamente menor que o mesmo momento no grupo G3 VB. O momento M2 do grupo G2 VB é estatisticamente menor que o mesmo momento do grupo G3 VB, e o momento M2 do grupo G1 VB não difere estatisticamente dos mesmos momentos dos grupos G2 VB e G3 VB. No momento M3, não houve diferença estatística ($p>0,05$).

5.2.5 HEMOGLOBINA

Os valores individuais da hemoglobina dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 13).

A tabela 11 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da hemoglobina dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 11 ilustra os valores médios da hemoglobina dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

TABELA 11 – Valores médios e desvio padrão de hemoglobina (g/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.

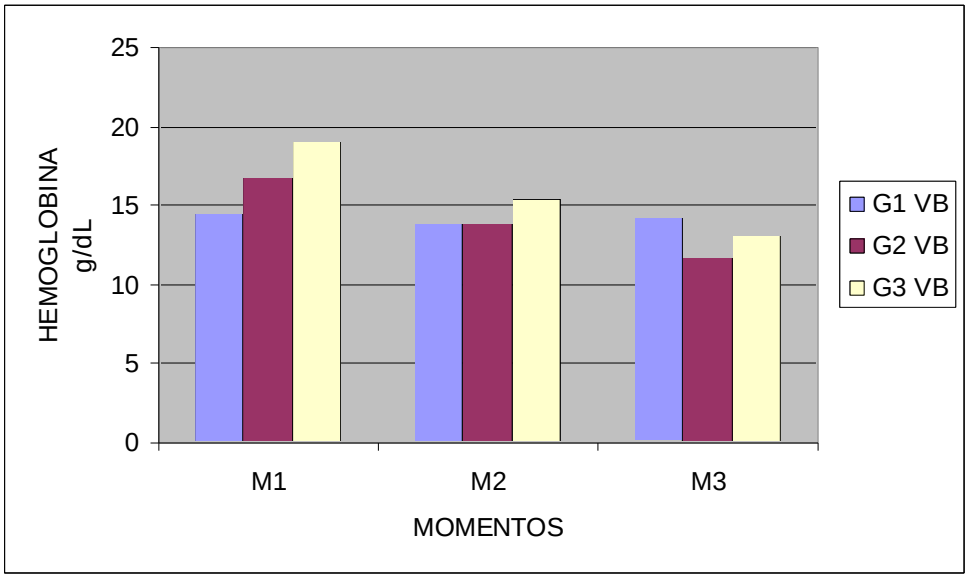
Hemoglobina	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	14,58 ±0,23 Ca	16,75 ±0,79 Ba	19,083 ±0,587 Aa
M2	13,95 ±0,60 Aa	13,87 ±1,51 Ab	15,35 ±1,22 Ab
M3	14,25 ±0,42 Aa	11,78 ±1,25 Bc	13,12 ±2,36 ABb

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

Hemoglobina 12,2 – 17,3 g/dL (UNOESTE, 2008)

GRÁFICO 11 - Valores das médias da hemoglobina (g/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico.



Não houve diferença estatística (p>0,05) entre os momentos no grupo G1 VB. Por outro lado, no grupo G2 VB, houve uma diferença estatisticamente significativa (p<0,05) entre o momento M1 e o momento M2, sendo o momento M2 estatisticamente menor que o momento M1, e o momento M3 estatisticamente menor que o momento M1 e o momento M2. No grupo G3 VB, os valores médios do M2 e M3 são estatisticamente menores (p<0,05) do que o valor médio do momento M1.

Entre os mesmos momentos em grupos diferentes, houve uma diferença estatística (p<0,05) quando comparado o momento M1 do grupo G1 VB e o mesmo momento do grupo G2 VB, sendo o primeiro estatisticamente menor que o segundo e o mesmo momento no grupo G3 VB é estatisticamente (p<0,05) maior que no grupo G2 VB. Também o momento M3 do grupo G2 VB é estatisticamente menor que o mesmo momento no grupo G1 VB. O momento M3 do grupo G3 VB não difere (p>0,05) do momento M3 dos outros grupos.

5.2.6 VOLUME GLOBULAR (VG)

Os valores individuais do volume globular (VG) dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 18).

A tabela 12 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, do volume globular (VG) dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 12 ilustra os valores médios do VG dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

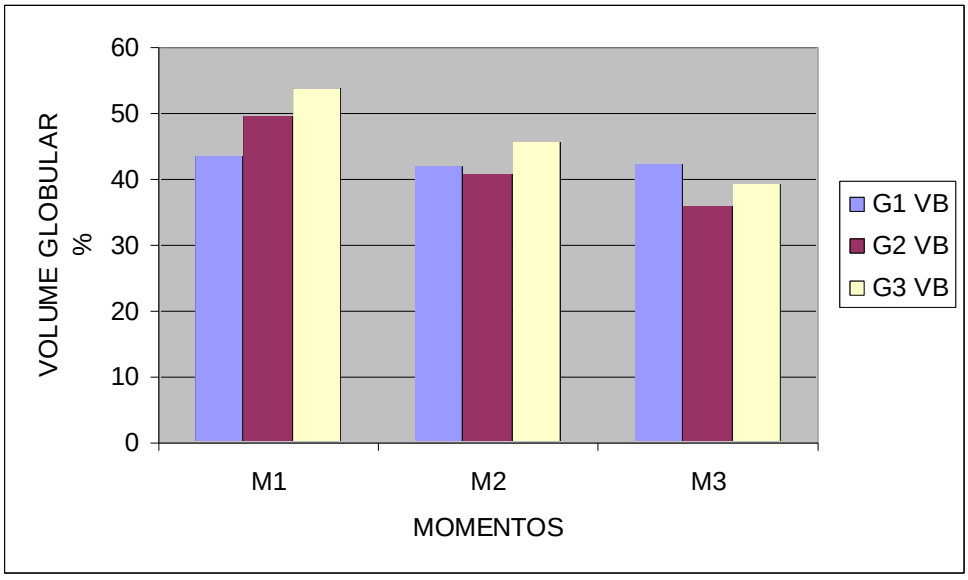
TABELA 12 - Valores médios e desvio padrão do volume globular (VG) (%) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.

VG	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	43,50 ±1,04 Ba	49,83 ±1,32 Aa	53,83 ±1,83 Aa
M2	42,17 ±1,32 Aa	41,00 ±5,47 Ab	45,67 ±3,20 Ab
M3	42,50 ±0,54 Aa	36,00 ±3,98 Ab	39,33 ±7,55 Ab

a, b – em cada linha, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Volume globular 36 – 52% (UNOESTE, 2008).

GRÁFICO 12 - Valores das médias do volume globular (%) dos ratos em diferentes momentos após inoculação, do veneno botrópico.



Não houve diferença estatística (p>0,05) entre os momentos no grupo G1 VB. No entanto, no grupo G2 VB houve diferença estatística entre o momento M1 e os momentos M2 e M3, sendo que no momento M1, o valor médio é estatisticamente maior que nos outros momentos. No grupo G3 VB o valor médio de M1 é estatisticamente maior (p<0,05) que os valores médios de M2 e M3.

Entre os mesmos momentos em grupos diferentes houve diferença estatística somente no momento M1, sendo que o momento M1 do grupo G1 VB é estatisticamente menor do que o mesmo momento nos grupos G2 VB e G3 VB.

5.2.7 NUMERO TOTAL DE LEUCÓCITOS

Os valores individuais do número total de leucócitos dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 19).

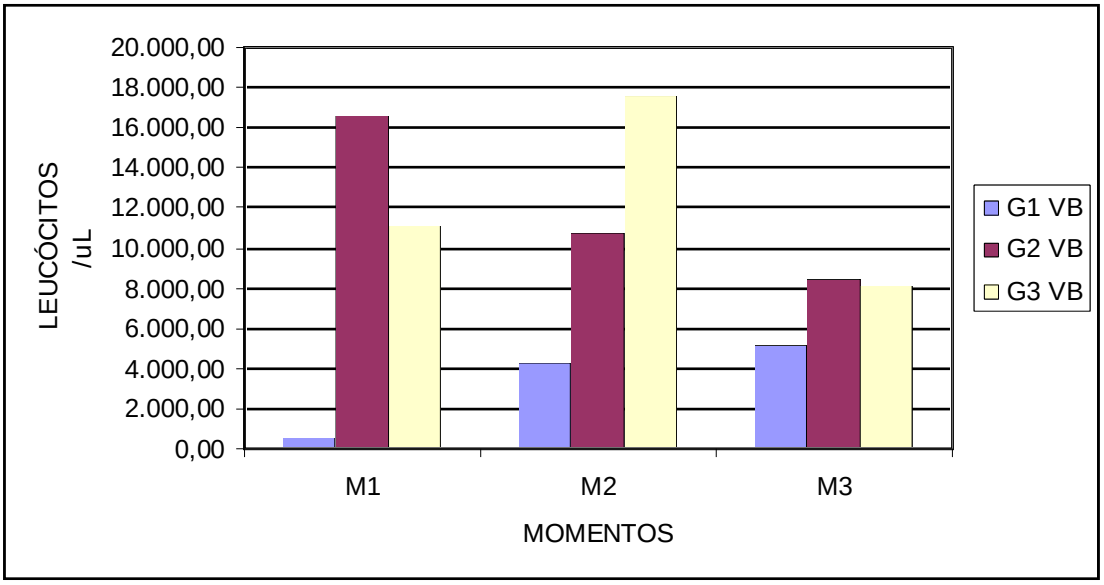
A tabela 13 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, do numero de leucócitos dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 13 ilustra os valores médios do número de leucócitos dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

TABELA 13 - Valores médios e desvio padrão da contagem total de leucócitos (/µL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.

Leucócitos	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	5.640,00 ±879,20 Ba	16.600,00 ±6.753,10 Aa	11.133,00 ±1.869,40 Ab
M2	4.236,90 ±1.992,30 Ba	10.750,00 ±3.320,10 Aab	17.566,67 5.477,80 Aa
M3	5.200,00 ±946,04 Aa	8.466,70 ±4.264,60 Ab	8.166,67 ±4.322,00 Ab

a, b – em cada linha, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05) A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)Leucócitos 4.100,00 – 15.600,00 /µL (UNOESTE, 2008)

Gráfico 13. Valores das médias do número total de leucócitos (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico.



Não houve diferença estatística (p>0,05) entre os momentos no grupo G1 VB. No grupo G2 VB, o momento M1 difere estatisticamente do momento M3, sendo este estatisticamente menor que o momento M1, e o momento M2 não difere dos momentos M1 e M3. No grupo G3 VB, o momento M2 é estatisticamente maior que os momentos M1 e M3.

Entre os mesmos momentos de grupos diferentes, o momento M3 não difere estatisticamente entre os grupos. O momento M1 do grupo G1 VB é estatisticamente menor do que o mesmo momento nos grupos G2 VB e G3 VB. O momento M2 do grupo G1 VB é estatisticamente menor que o mesmo momento nos grupos G2 VB e G3 VB.

5.2.8 NÚMERO DE NEUTRÓFILOS

Os valores individuais do número de neutrófilos dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 20).

O quadro 14 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, do número de neutrófilos dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o

gráfico 14 ilustra os valores médios do número de neutrófilos dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

TABELA 14 – Valores médios e desvio padrão de neutrófilos (/µL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após inoculação do veneno botrópico, em ratos.

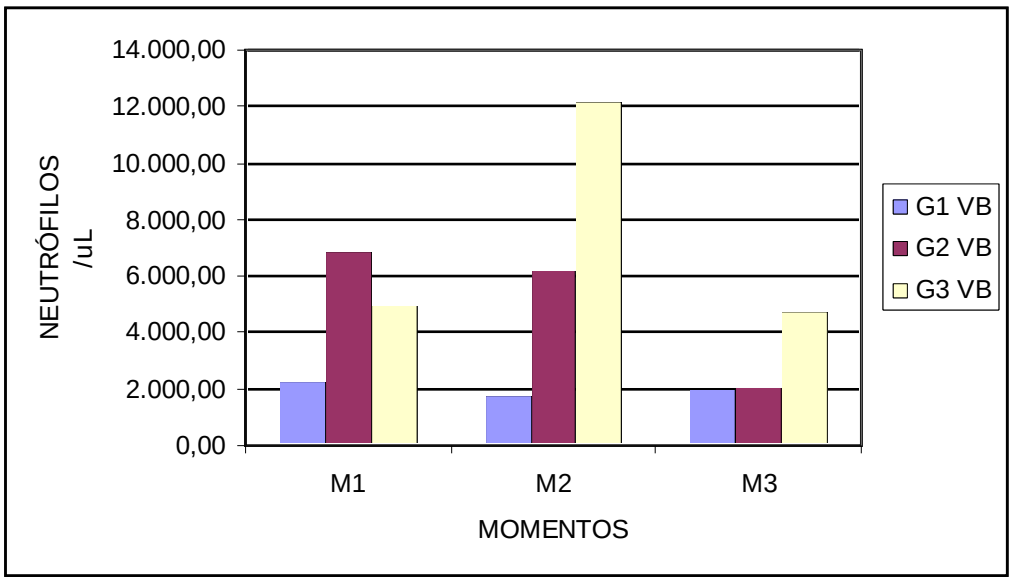
Neutrófilos	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	2.294,17 ±548,48 Ba	6.832,33 ±1.900,2 Aa	4947.3 ±1568,3 Ab
M2	1.783,67 ±380,08 Ca	6.221,67 ±3.673,6 Ba	12.191,00 ±4.404,4 Aa
M3	2.013,00 ±205,83 ABa	2.051,70 ±1.841,80 Bb	4.703,83 ±2.801,7 Ab

a, b – em cada linha, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

número de neutrófilos 492 – 5.640 /µL (UNOESTE, 2008)

GRÁFICO 14 - Valores das médias dos neutrófilos (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico.



Não houve diferença estatística significante (p>0,05) entre os momentos no grupo G1 VB. No grupo G2 VB, houve diferença estatística significante (p<0,05) quando comparado o momento M3 com os momentos M1 e M2, sendo o momento M3 estatisticamente menor que os momentos M1 e M2, e no grupo G3 VB houve diferença estatística entre os momentos M1 e M3 quando comparados com o momento M2, sendo o valor médio do momento M2 estatisticamente maior (p<0,05).

O momento M1 do grupo G1 VB difere estatisticamente do mesmo momento nos grupos G2 VB e G3 VB, sendo o valor médio de M1 do grupo G1 VB estaticamente menor do que o mesmo momento nos grupos G2 VB e G3 VB. No momento M2, o grupo G1 VB é estatisticamente menor que o grupo G2 VB e esse é estaticamente menor do que o grupo G3 VB. O momento M3 do grupo G2 VB tem o valor médio estatisticamente menor que o mesmo momento no grupo G3 VB, e esses não diferem do momento M3 do grupo G1 VB.

5.2.9 NUMERO DE LINFÓCITOS

Os valores individuais do numero de linfócitos dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 21).

O quadro 15 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, do número de linfócitos dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 15 ilustra os valores médios do número de linfócitos dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

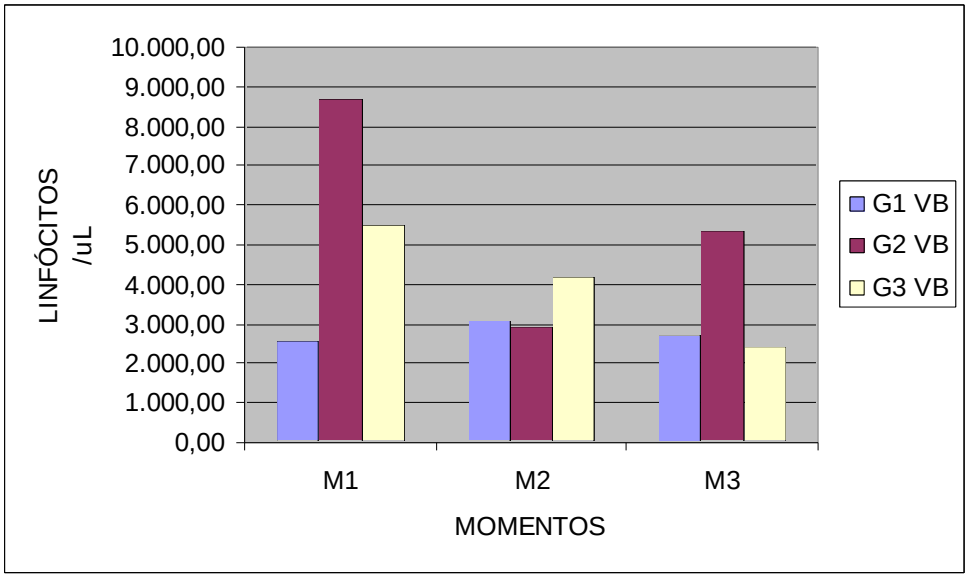
TABELA 15 – Valores médios e desvio padrão de linfócitos (/µL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.

Linfócitos	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	2.565,50 ±490,40 Ba	8.693,00 ±5.184,20 Aa	5.499,5 ±943,28 Aa
M2	3.072,50 ±574,40 Aa	2.927,00 ±1.065,5 Ab	4.200,17 ±1.287,80 Aa
M3	2.730,50 ±871,64 Aa	5.359,80 ± 2.503,10 Aab	2.434,33 ±1.012,10 Ab

a, b – em cada linha, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05) Número de linfócitos 2.091 – 10.920 /µL (UNOESTE, 2008).

GRÁFICO 15 - Valores das médias dos linfócitos (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico.



No grupo G1 VB, não teve diferença estatística significativa (p>0,05) entre os momentos. No grupo G2 VB, o momento M1 é estatisticamente maior quando comparado aos momentos M2 e M3. No grupo G3 VB, os momentos M1 e M2 são estatisticamente maiores (p<0,05) que o momento M3.

Os momentos M2 e M3 não diferem quando comparados com os mesmo momentos em grupos diferentes. No entanto, o momento M1 do grupo G1 VB tem o valor médio estatisticamente menor quando comparado ao mesmo momento no grupo G2 VB.

5.2.10 PROTEÍNA PLASMÁTICA TOTAL (PPT)

Os valores individuais da proteína plasmática total dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 22).

A tabela 16 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da proteína plasmática total dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 16 ilustra os valores médios da proteína plasmática total dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

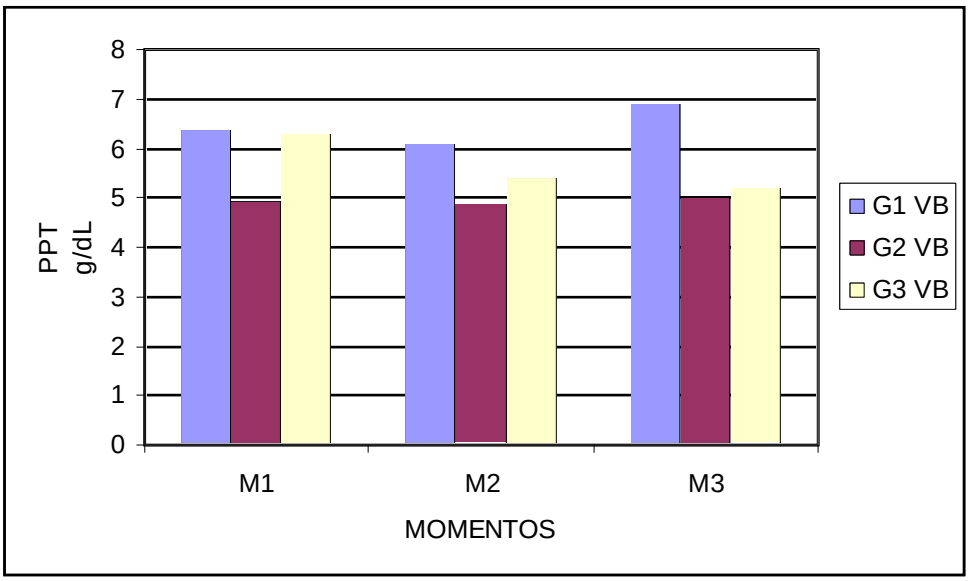
TABELA 16 – Valores médios e desvio padrão de proteína plasmática total (PPT) (g/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após inoculação do veneno botrópico, em ratos.

PPT	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	6,40 ±0,12 Ab	4,93 ±0,3 Ba	6,3 ±0,45 Aa
M2	6,10 ±0,27 Ab	4,87 ±0,24 Ba	5,43 ±0,34 Bb
M3	6,90 ±0,20 Aa	5,03 ±0,46 Ba	5,23 ±0,42 Bb

a, b – em cada linha, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05) PPT 6,0 – 8,0 g/dL (UNOESTE, 2008)

GRÁFICO 16 - Valores das médias da PPT (g/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico.



Não houve diferença estatística significativa (p>0,05) entre os momentos do mesmo grupo no grupo G2 VB. No grupo G1 VB, o valor médio do momento M3 é estatisticamente maior quando comparado com o momento M1 e M2. No grupo G3 VB, o valor médio do momento M1 é estatisticamente maior (p<0,05) que os valores médios dos momentos M2 e M3.

Os momentos M2 e M3 do grupo G1 VB, quando comparados com os mesmos momentos do grupo G2 VB e do grupo G3 VB, têm o valor médio estatisticamente (p<0,05) maior. O momento M1 dos grupos G1 VB e G3 VB são estatisticamente maiores (p<0,05) que o mesmo momento no grupo G2 VB.

5.2.11 FIBRINOGÊNIO

Os valores individuais de fibrinogênio dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 23).

A tabela 17 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, de fibrinogênio dos animais dos grupos, onde foi inoculado o veneno botrópico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 17 ilustra os valores médios de fibrinogênio dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

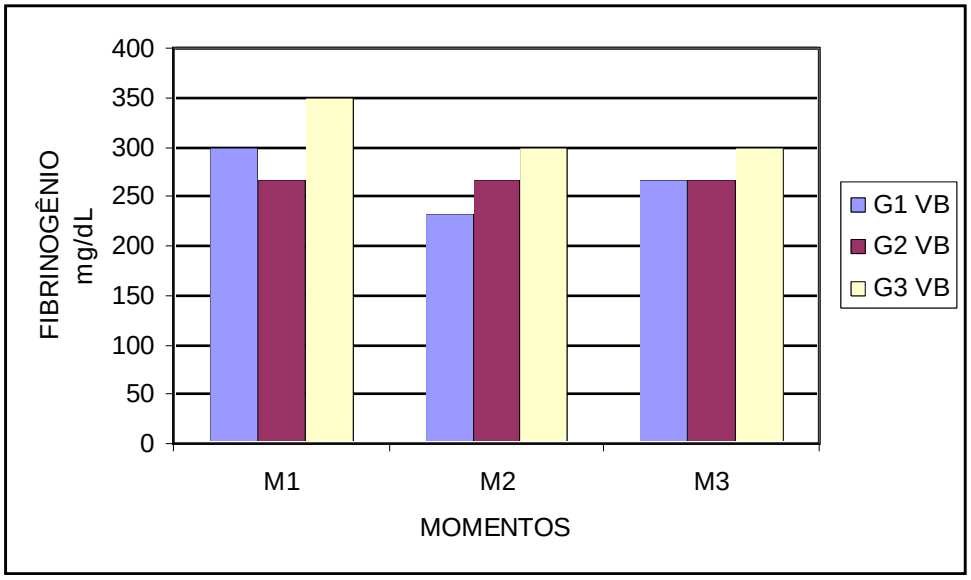
TABELA 17 - Valores médios e desvio padrão de fibrinogênio (mg/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno botrópico, em ratos.

Fibrinogênio	G1 VB	G2 VB	G3 VB
M1	300,00 ±109,54 Aa	266,67 ±103,28 Aa	350,00 ±83,66 Aa
M2	233,33 ±81,65 Aa	266,67 ±103,28 Aa	300,00 ±109,54 Aa
M3	266,67 ±103,28 Aa	266,67 ±103,28 Aa	300,00 ±109,54 Aa

a, b – em cada linha, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05.)Fibrinogênio 100 – 400 mg/dL (UNOESTE, 2008)

GRÁFICO 17 - Valores das médias do fibrinogênio (mg/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno botrópico.



Não houve diferença estatística significante (p>0,05) entre os momentos dentro do grupo e também não houve diferença estatística entre os mesmos momentos em grupos diferentes.

5.3 ACHADOS HITOPATOLÓGICOS DO VENENO BOTRÓPICO

5.3.1 ALTERAÇÕES MUSCULARES

As alterações musculares (degeneração, necrose de coagulação, regeneração de fibra, edema, congestão e hemorragia) foram avaliadas por meio de escore onde (1) significa discreta, (2) moderada e (3) acentuada. O quadro 4 mostra o número de animais que apresentou lesões histopatológicas no momento M3 dentro de cada grupo.

QUADRO 4 – Número de animais que apresentarou lesões histológicas na musculatura no momento M3, em ratos inoculados com veneno da serpente Bothrops jararaca

Lesão ↓	Escores →	1	2	3	Grupos
		N° de animais			
Degeneração		2/6	0/6	0/6	G1 VB
		0/6	0/6	6/6	G2 VB
		0/6	0/6	6/6	G3 VB
Necrose de coagulação (Fig. 11)		2/6	0/6	0/6	G1 VB
		0/6	0/6	6/6	G2 VB
		0/6	0/6	6/6	G3 VB
Regeneração de fibra		0/6	0/6	0/6	G1 VB
		0/6	0/6	0/6	G2 VB
		6/6	0/6	0/6	G3 VB
Edema (Fig. 11)		6/6	0/6	0/6	G1 VB
		0/6	0/6	6/6	G2 VB
		0/6	6/6	0/6	G3 VB
Congestão		3/6	0/6	0/6	G1 VB
		0/6	6/6	0/6	G2 VB
		6/6	0/6	0/6	G3 VB
Hemorragia (Fig. 11)		0/6	0/6	0/6	G1 VB
		0/6	0/6	6/6	G2 VB
		0/6	0/6	0/6	G3 VB

G1 VB – Controle (solução salina intramuscular) + água (gavage),G2 VB – Veneno botrópico + soro antiofídico e G3 VB – Veneno botrópico + soro antiofídico + Mikania glomerata

A figura 10 ilustra necrose visível 6 horas após a inoculação do veneno botrópico.

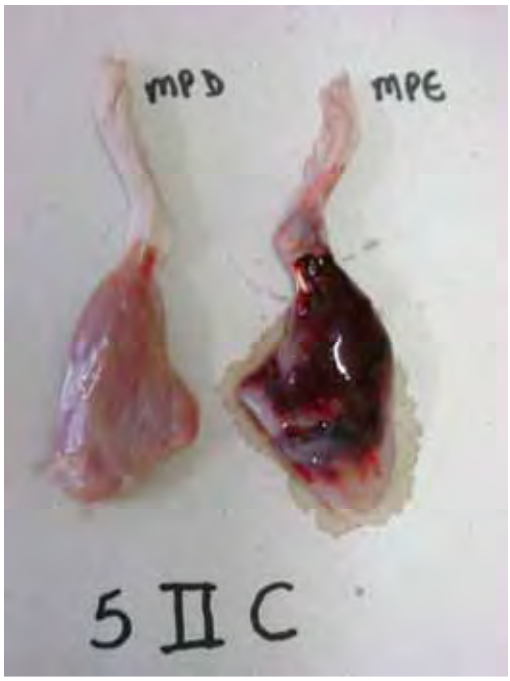


Figura 10 Necrose e hemorragia no membro esquerdo, 6 horas após a inoculação do veneno botrópico.

Os animais do grupo G3 VB apresentaram regeneração discreta de fibra.

Em relação ao edema, todos os animais do grupo G3 VB, que receberam tratamento complementar com o extrato aquoso de Mikania glomerata, apresentaram de forma moderada enquanto os animais do grupo G2 VB, que só recebeu o tratamento convencional com o soro antiofídico, apresentaram de forma acentuada.

Todos os animais do grupo G2 VB apresentaram hemorragia de forma acentuada, já no grupo G3 VB, não houve a presença deste achado em nenhum animal.

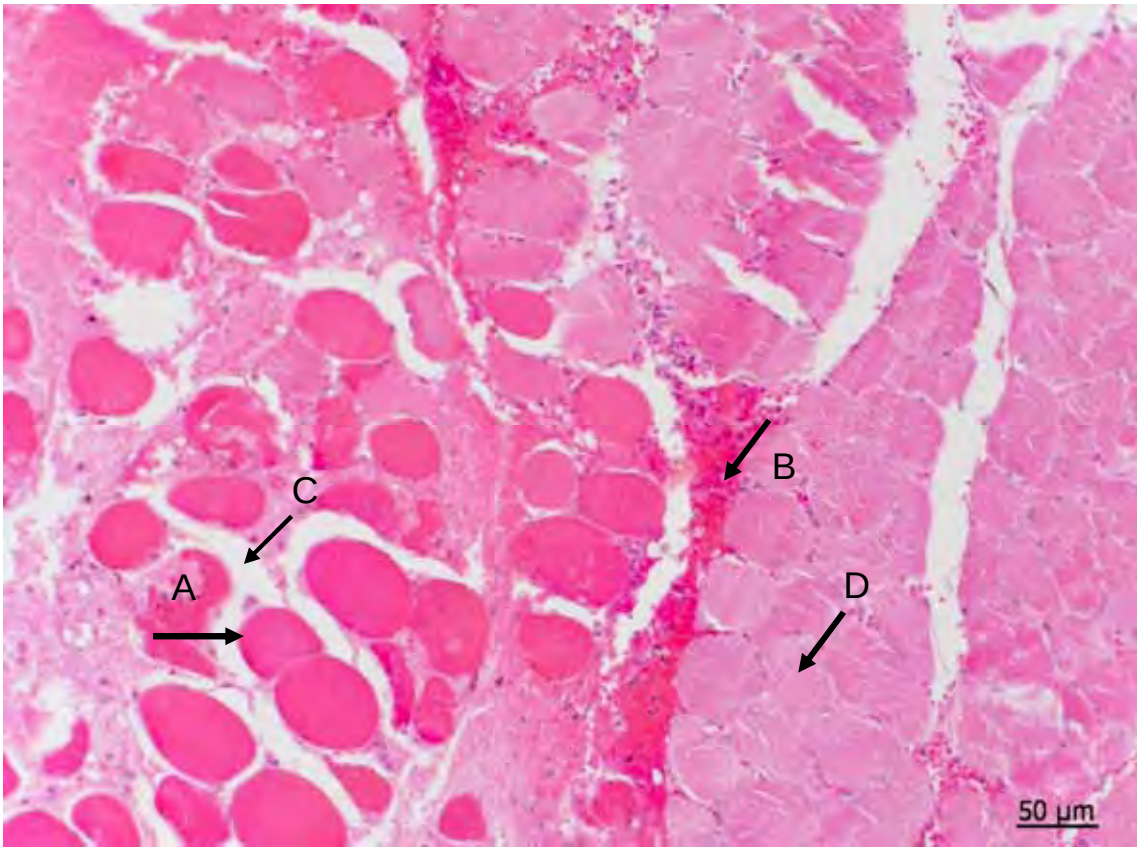


Figura 11. Lesões em musculatura do membro posterior esquerdo 24 horas após a inoculação do veneno botrópico. A – Necrose de coagulação, B –Hemorragia, C- Edema e D – Fibra muscular estriada sem alteração evidente (H&E, 20x)

5.3.2 ALTERAÇÕES RENAIS

As alterações renais (degeneração hidrópica renal, necrose tubular aguda, congestão e hemorragia) foram avaliadas por meio de escores onde (1) significa discreta, (2) moderada e (3) acentuada. O quadro 5 mostra o número de animais que apresentou lesões histopatológicas no momento M3 dentro de cada grupo.

Quadro 5 – Número de animais que apresentaram lesões histológicas renais no momento M3, em ratos inoculados com veneno da serpente Bothrops jararaca.

Lesão ↓	Escores →	1	2	3	Grupos
		N° de animais			
Degeneração hidrópica renal		5/6	1/6	0/6	G1 VB
		0/6	4/6	2/6	G2 VB
		0/6	0/6	6/6	G3 VB
Necrose tubular aguda		3/6	0/6	0/6	G1 VB
		3/6	1/6	2/6	G2 VB
		0/6	0/6	6/6	G3 VB
Congestão		4/6	0/6	0/6	G1 VB
		0/6	6/6	0/6	G2 VB
		0/6	2/6	4/6	G3 VB
Hemorragia (Fig. 12)		0/6	0/6	0/6	G1 VB
		1/6	2/6	3/6	G2 VB
		0/6	0/6	6/6	G3 VB

G1 VB – Controle (solução salina intramuscular) + água (gavage), G2 VB – Veneno botrópico + soro antiofídico e G3 VB – Veneno botrópico + soro antiofídico + Mikania glomerata.

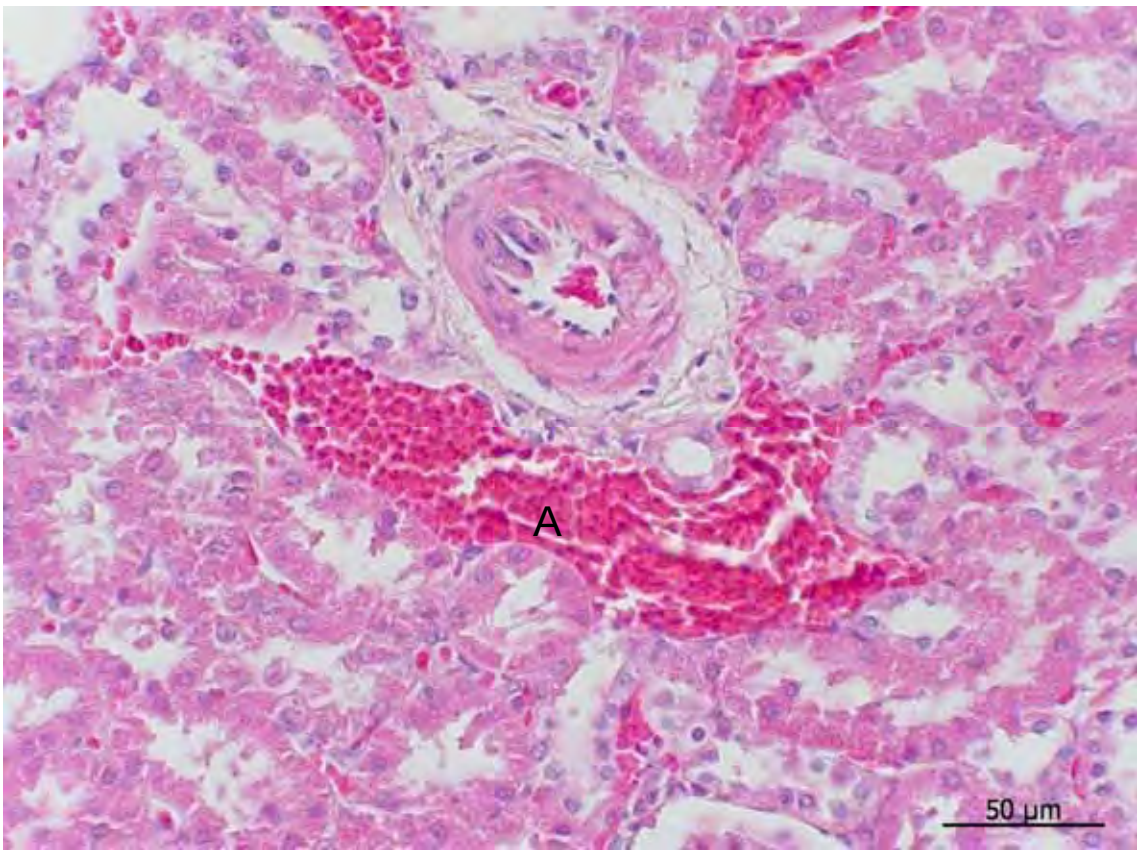


Figura 12. Lesões renal 24 horas após a inoculação do veneno botrópico. A – Hemorragia (H&E, 40x)

5.4 OBSERVAÇÕES CLÍNICAS DA INTOXICAÇÃO POR VENENO CROTÁLICO

5.4.1 TEMPERATURA

Os valores individuais da temperatura dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 24).

A tabela 18 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da temperatura dos animais dos vários grupos que foram inoculados veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 18 ilustra os valores médios da temperatura dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

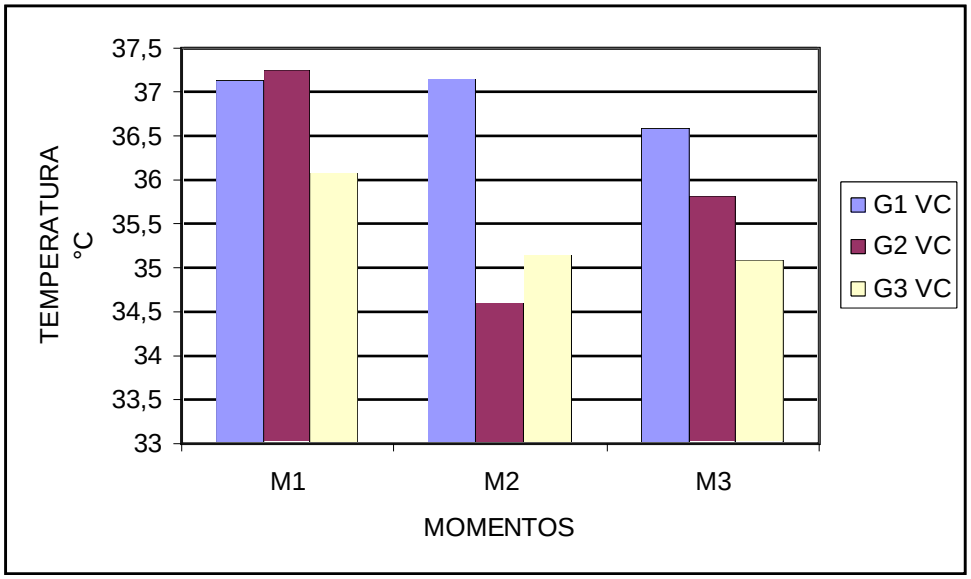
TABELA 18 – Valores médios e desvio padrão de temperatura (°C) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após inoculação do veneno crotálico, em ratos.

Temperatura	G1 VC (grupo controle)	G2 VC Veneno+soro antiofídico	G3 VC Veneno+soro antiofídico+ extrato
M1 30 min após inoculação	37,1 ± 0,2 Aa	37,1 ± 0,2 Aa	36,1 ± 1,7 Aa
M2 6 h após inoculação	37,2 ± 0,3 Aa	34,6 ± 1,6 Bb	35,2 ± 1,1 Ba
M3 24 horas após inoculação	36,6 ± 0,8 Aa	35,8 ± 0,9 Aab	35,8 ± 0,9 Aa

a, b – em cada linha, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Temperatura 35,9 – 37,5°c (UNOESTE, 2008)

GRÁFICO 18 - Valores das médias da temperatura (°C) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



Não houve diferença estatisticamente significativa (p>0,05) desta variável entre os momentos no grupo G1 VC e G3 VC. Porém, houve diferença estatisticamente significativa (p<0,05) no M2 do grupo G2 VC quando comparado com o momento M1 do mesmo grupo, sendo que o M2 é

estatisticamente menor que o M1. O momento M3 do grupo G3 VC tem um valor menor quando observado com os valores de referência.

Entre os momentos em diferentes grupos, houve, somente, diferença estatística no momento M2 do grupo G1VC com os dos grupos G2 VC e G3 VC, sendo que o M2 do grupo G1 VC é estatisticamente maior ($p<0,05$).

5.4.2 FREQÜÊNCIA RESPIRATÓRIA

Os valores individuais da freqüência respiratória dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 25).

A tabela 19 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da freqüência respiratória dos animais dos vários grupos que foram inoculados com veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 19 ilustra os valores médios da freqüência respiratória dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

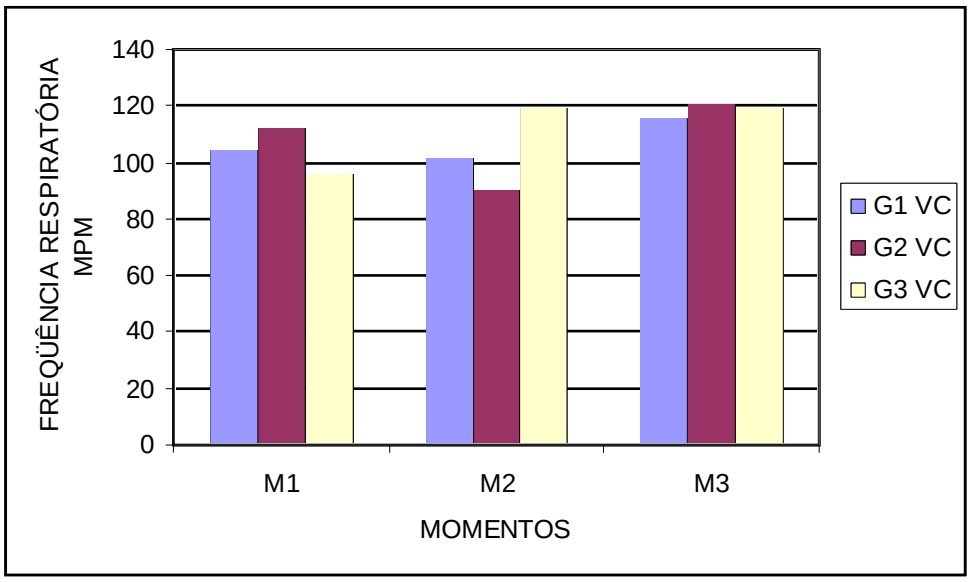
TABELA 19 – Valores médios e desvio padrão de freqüência respiratória (mpm) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

Freqüência respiratória	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	104,3 ± 17,4 Aa	112,7 ± 25 Aa	96 ±17,2 Aa
M2	101,7 ± 17,6 Aa	90,3 ± 16,4 Aa	119,7 ± 25,1 Aa
M3	116,3 ± 24,6 Aa	121 ± 8,9 Aa	119,2 ± 18,1 Aa

a, b – em cada linha, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Freqüência respiratória 70 – 120 mpm (UNOESTE, 2008).

GRÀFICO 19 - Valores das médias da freqüência respiratória (mpm) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



Entre os momentos dentro de cada grupo, não houve diferença estatística (p>0,05) nos grupos G1 VC, G2 VC e G3 VC.

Não houve também diferença estatística significante (p>0,05) entre os mesmos momentos em grupos diferentes.

5.4.3 FREQÜÊNCIA CARDÍACA

Os valores individuais da temperatura dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 26).

A tabela 20 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da freqüência cardíaca dos animais dos vários grupos que foram inoculados com veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 20 ilustra os valores médios da freqüência cardíaca dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

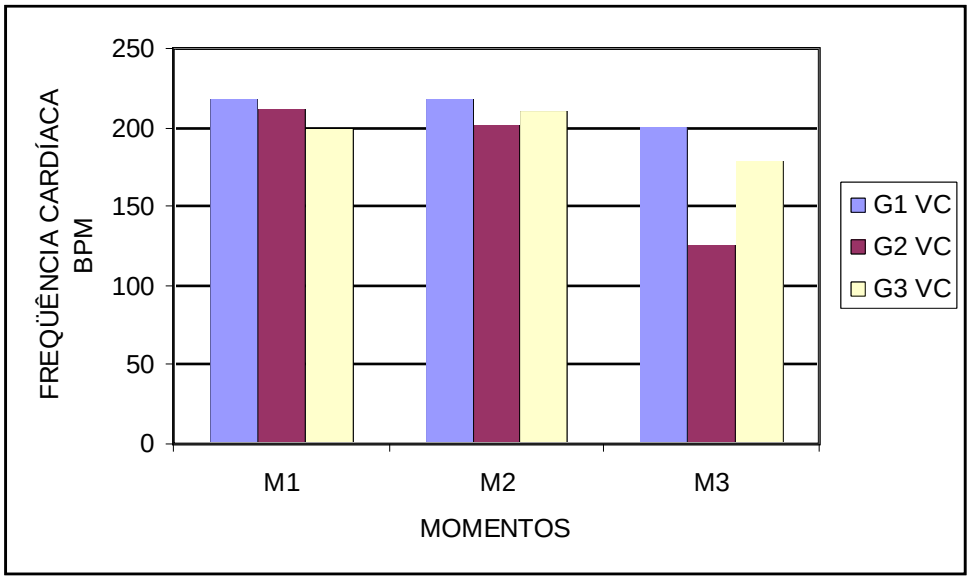
TABELA 20 – Valores médios e desvio padrão de freqüência cardíaca (bpm) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

Freqüência Cardíaca	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	218 ± 11,2 Aa	212,7 ± 18,7 Aa	213 ± 17,8 Aa
M2	218 ± 13,1 Aa	202 ± 43,1 Aab	210,7 ± 15,1 Aab
M3	200,3 ± 14,3 Aa	126,7 ± 77,2 Ab	179 ± 30,8 Ab

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Freqüência cardíaca 215 -450 bpm (UNOESTE, 2008)

GRÁFICO 20 - Valores das médias da freqüência cardíaca (bpm) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



Não houve diferença estatística significativa (p>0,05) entre os momentos no grupo G1 VC. No grupo G2 VC, o momento M1 é estatisticamente maior que o momento M3 e no grupo G3 VC o momento M1 é estatisticamente maior que o momento M3.

Não houve diferença estatística significativa entre os momentos M1 e M2 do grupo G1 VB quando comparados com os mesmo momentos em outros

grupos. No entanto, o M3 do grupo G1 VC é estatisticamente maior que no grupo G2 VC e G3 VC.

5.4.4 EDEMA DE MEMBRO DIREITO (EDMD)

Os valores individuais do edema de membro direito (EDMD) dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 27).

A tabela 21 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, do edema de membro direito dos animais dos vários grupos, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 21 ilustra os valores médios do edema de membro direito dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

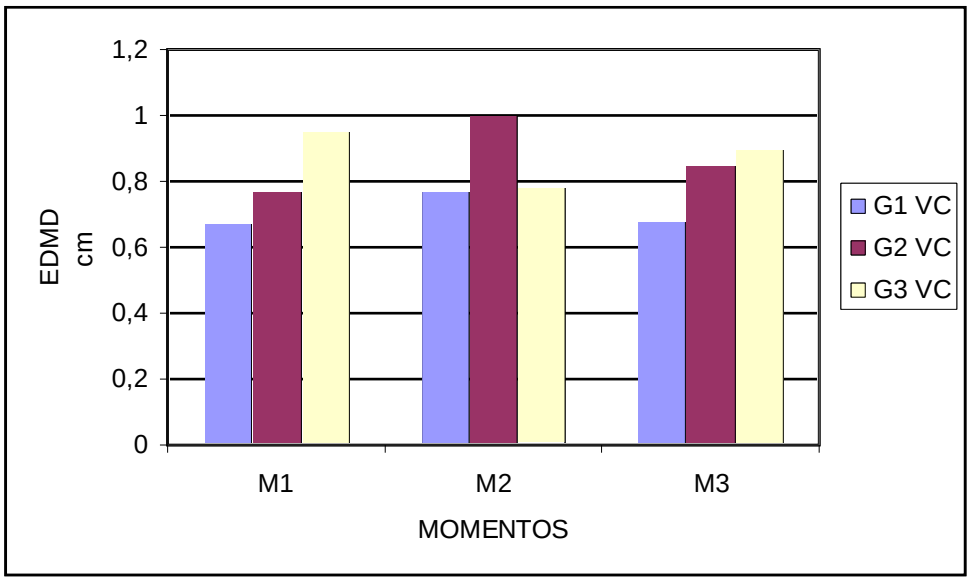
TABELA 21 – Valores médios e desvio padrão de edema (cm) de membro direito (EDMD) e comparação das médias pelo teste de Tukey em ratos.

EDMD	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	0,67 ± 0,08 Ba	0,77 ± 0,15 Ba	0,95 ± 0,06 Aa
M2	0,77 ± 0,08 Ba	1,00 ± 0,13 Aa	0,78 ± 0,04 Bb
M3	0,68 ± 0,08 Ba	0,85 ± 0,21 ABa	0,90 ± 0,10 Aa

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

GRÁFICO 21 - Valores das médias do EDMD (cm) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



Não houve diferença estatística significativa (p>0,05) entre os momentos dentro dos grupos G1 VC e G2 VC. Porém, no grupo G3 VC, houve diferença estatística significante entre o momento M2 quando comparado com os momentos M3 e M1, sendo que os valores médios do M3 e do M1 deste grupo são estatisticamente maiores do que no momento M2.

Entre os momentos dos diferentes grupos, houve diferença estática significativa (p<0,05) no momento M1, sendo que do grupo G3 VC é estatisticamente maior (p<0,05). No momento M2 no grupo G2 VC é estatisticamente maior do que o mesmo momento nos grupos G3 VC e G1 VC. O momento M3 do grupo G1 VC é estatisticamente menor do que no grupo G3 VC.

5.4.5 EDEMA DE MEMBRO ESQUERDO

Os valores individuais da temperatura dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 28).

A tabela 22 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, do edema de membro esquerdo dos animais dos vários grupos que foram inoculados com veneno crotálico, nos diferentes momentos de

avaliação e o gráfico 22 ilustra os valores médios do edema de membro esquerdo dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

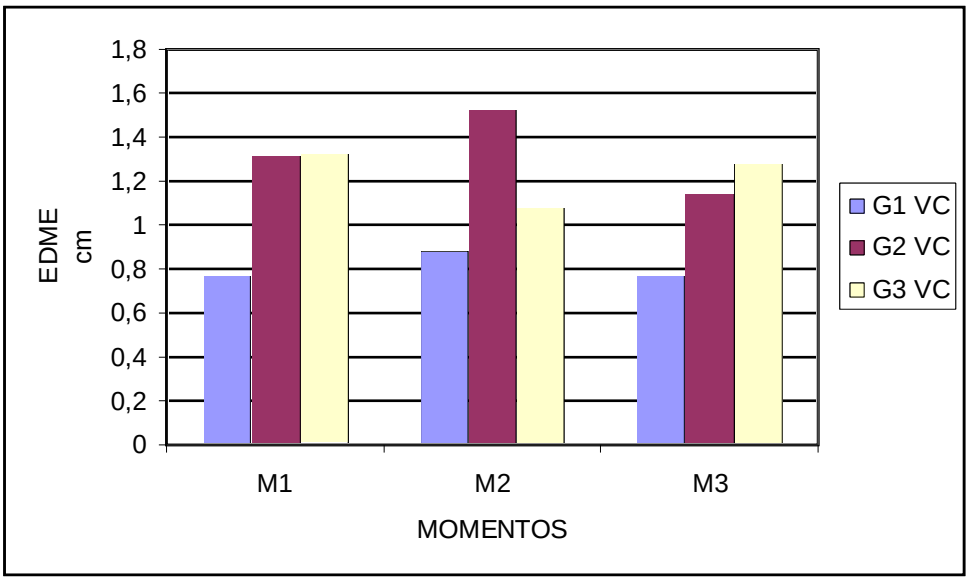
TABELA 22 – Valores médios e desvio padrão de edema de membro esquerdo (EDME) (cm) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

EDME	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	0,77 ± 0,10 Ba	1,32 ± 0,12 Aa	1,33 ± 0,16 Aa
M2	0,88 ± 0,16 Ba	1,53 ± 0,20 Aa	1,08 ± 0,13 Ba
M3	0,77 ± 0,08 Ba	1,15 ± 0,29 Aa	1,28 ± 0,10 Aa

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

GRÁFICO 22 - Valores das médias do EDME (cm) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



Não houve diferença estatística significativa (p>0,05) entre os momentos nos grupos G1 VC, G2 VC e G3 VC.

Entre os momentos dos diferentes grupos, houve uma diferença estatística significativa ($p<0,05$) no momento M1 do grupo G1 VC quando comparados com o momento M1 dos grupos G2 VC e G3 VC, sendo que o valor médio do M1 do grupo G1 VC é estatisticamente menor. O momento M2 do grupo G2 VC é estatisticamente maior quando comparado com os mesmos momentos dos grupos G1 VC e G3 VC. No momento M3 o grupo G1 VC tem o valor médio menor quando comparado com os grupos G2 VC e G3 VC.

5.4.6 LOCOMOÇÃO

Foi avaliada a locomoção por meio de escore sendo 1 - presente e 2 - ausente. Nenhum dos animais do grupo controle G1 VC apresentou ausência de locomoção. No grupo G2 VC, 4 animais no momento M2 apresentaram ausência de locomoção e no grupo G3 VC 5 animais no momento M2 e 1 animal no momento M3 apresentaram ausência de locomoção.

5.4.7 GRAU DE SEDAÇÃO

O grau de sedação foi avaliado por meio de escore sendo (1) sedação leve ou ausente, (2) sedação moderado, quando o animal apresentava sedação, mas respondia a estímulos e (3) sedação grave quando o animal não responde a estímulos. No grupo G2 VC, 5 animais apresentaram escore 2 no momento M2 (Figura 11), no momento M3, 3 animais apresentaram sedação moderada. Já no grupo G3 VB, no momento M2 todos os animais (6 ratos) apresentaram sedação de escore 2. Nos outros momentos os animais apresentaram escore 1.



FIGURA 13. Animal apresentando grau de sedação moderado após 6 horas da inoculação do veneno.

5.4.8 OBSERVAÇÃO DE COAGULAÇÃO

A cada momento, foi observado se havia ou não presença de coagulação. Os animais foram avaliados por meio de escores onde (1) presença e (2) ausência.

A ausência de coagulação não foi observada em nenhum animal dos grupos G1 VC, G2 VC e G3 VC.

5.5 DADOS LABORATORIAIS CONSEQUENTES À INTOXICAÇÃO POR VENENO CROTÁLICO

5.5.1 URÉIA

Os valores individuais da uréia dos animais dos grupos estão anexos (ANEXOS – Quadros 29).

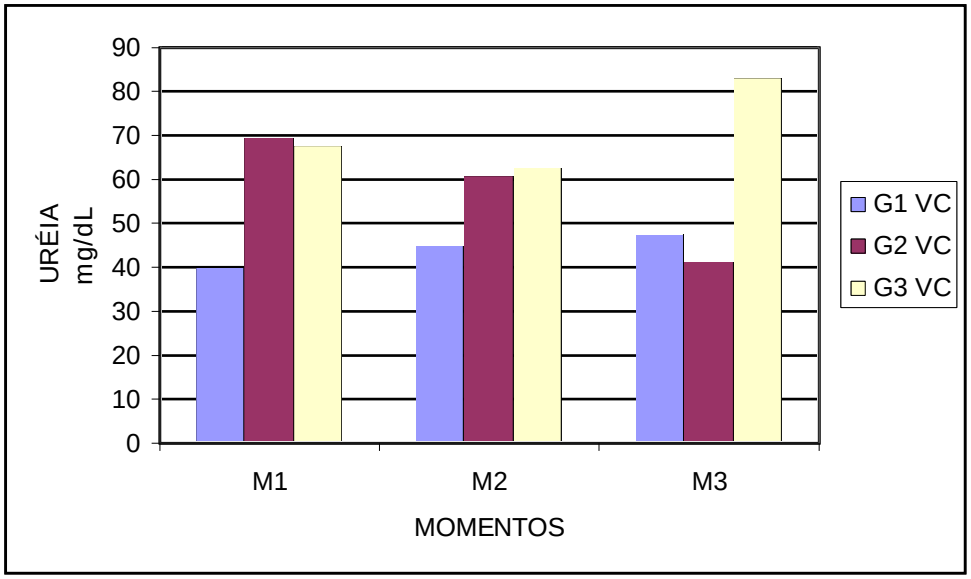
A tabela 23 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da uréia dos animais dos vários grupos que foram inoculados com veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 23 ilustra os valores médios da uréia temperatura dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

TABELA 23 – Valores médios e desvio padrão de uréia (mg/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

Uréia	G1 VC controle	G2 VC Veneno + soro antiofídico	G3 VC Veneno + soro antiofídico + extrato
M1 30 min após inoculação	39,90 ± 15,6 Ba	69,68 ±6,46 Aa	67,75 ±5,7 Aa
M2 6 h após inoculação	44,90 ± 11,7 Ba	60,70 ± 9,29 Aa	62,60 ± 9,8 Aa
M3 24 h após inoculação	47,68 ± 1,85 Aa	41,17 ±5,27 Ab	83,02 ±47,59 Aa

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05) A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Valores de referência UNOESTE, 2008.

GRÁFICO 23 - Valores das médias da uréia (mg/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



Não houve diferença estatística significativa (p>0,05) entre os momentos no grupo G1 VC e no grupo G3 VC. Porém, no grupo G2 VC, houve diferença estatística significante no momento M3 quando comparado aos M1 e M2, sendo que o momento M3 foi estatisticamente menor em relação aos 2 momentos.

Entre os momentos dos diferentes grupos, houve diferença estatística significativa no momento M1 do grupo G1 VC quando comparado com o mesmo momento dos grupos G2 VC e G3 VC, sendo estes estatisticamente maiores. No momento M2 do grupo G1 VC é estatisticamente menor que os momentos M2 do grupo G2 VC e G3 VC.

5.5.2 CREATININA

Os valores individuais da creatinina dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 30).

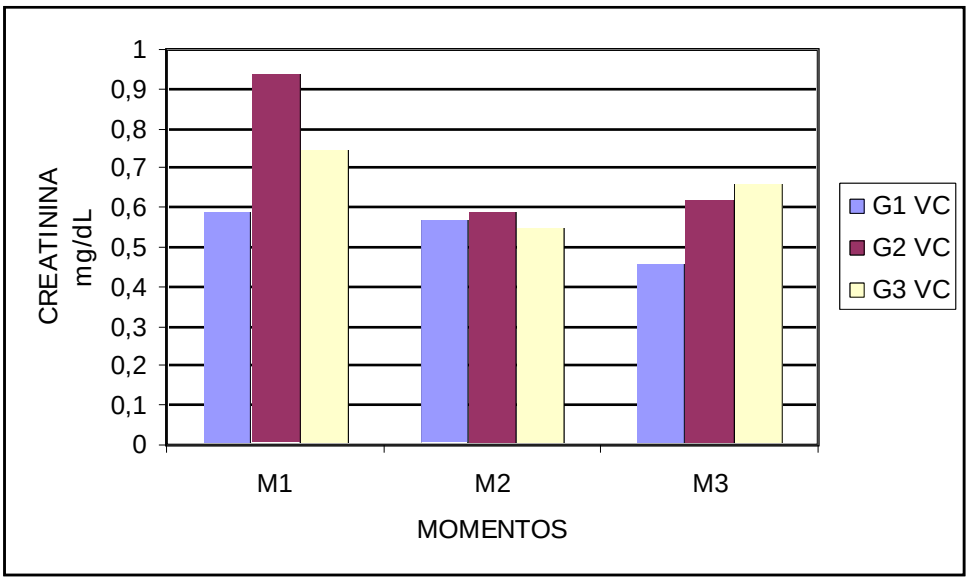
A tabela 24 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da creatinina dos animais dos vários grupos que foram inoculados com veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 24 ilustra os valores médios da creatinina dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

TABELA 24 – Valores médios e desvio padrão de creatinina (mg/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

Creatinina	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	0,59 Ca ± 0,52	0,94 Aa ±0,07	0,75 Ba ±0,1
M2	0,57 Aa ±0,57	0,59 Ab ±0,02	0,55 Ab ±0,07
M3	0,46 Bb ± 0,46	0,62 Ab ±0,14	0,66 Aab ±0,06

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05) Valores de referência UNOESE, 2008.

GRÁFICO 24. Valores das médias da creatinina (mg/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



Houve diferença estatística significativa ($p<0,05$) entre o momento M3 e os momentos M1 e M2 do grupo G1 VC, sendo que o momento M3 é estatisticamente menor. No grupo G2 VC, o momento M1 é estatisticamente maior que os momentos M2 e M3 e no grupo G3 VC, o momento M1 tem o valor médio maior que o momento M2.

Entre os momentos dos diferentes grupos, não houve diferença estatística significativa no momento M2. No momento M1 o grupo G1 VC tem valor médio menor que o grupo G3 VC, e este tem o valor médio estatisticamente menor que o mesmo momento no grupo G2 VC. O momento M3 do grupo G1 VC é estatisticamente menor quando comparado ao dos grupos G2 VC e G3 VC.

5.5.3 CREATINA QUINASE (CK)

Os valores individuais da creatina quinase (CK) dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 31).

A tabela 25 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da creatina quinase dos animais dos vários grupos que foram

inoculados com veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 25 ilustra os valores médios da creatina quinase dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

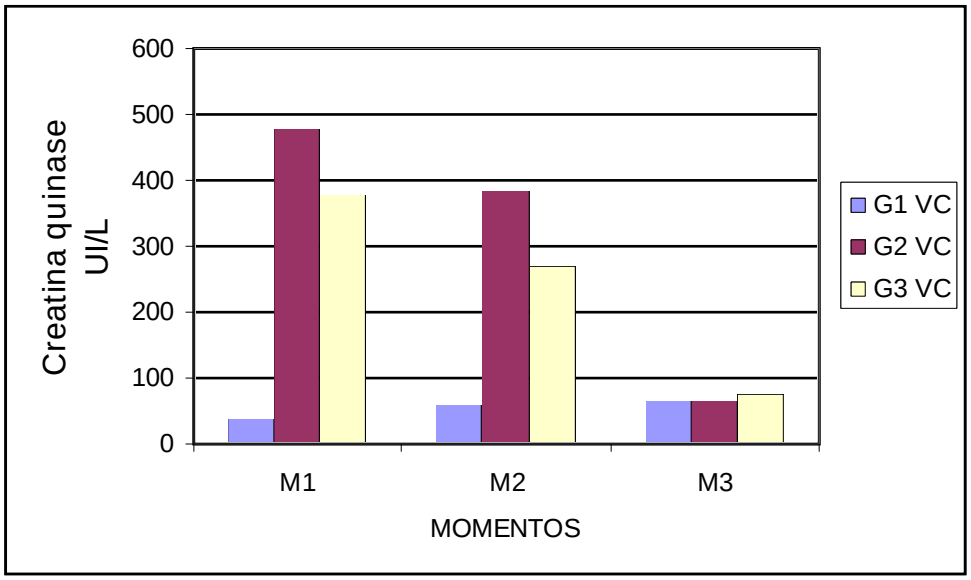
TABELA 25 - Valores médios e desvio padrão de creatina quinase (CK) (UI/L) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

CK	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	38,92 ±24 Ba	477,42 ±195,59 Aa	378,9 ±131,01 Aa
M2	60,50 ±36,65 Ba	385,08 ±206,17 Aa	269,35 ±104,22 Ab
M3	68,05 ±33,42 Aa	68,05 ±33,42 Ab	76,72 ±78,62c Ac

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

GRÁFICO 25 - Valores das médias da creatina quinase (UI/L) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



Entre os momentos no mesmo grupo, houve diferença estatística no grupo G2 VC entre os momentos M1 e M2 e o M3, sendo que os momentos M1 e M2 foram estatisticamente maiores. No grupo G3 VC, houve diferença entre os momentos, sendo que o momento M2 é estatisticamente ($p<0,05$) menor que o M1 e o momento M3 é estatisticamente ($p<0,05$) menor que o momento M2. No grupo G1 VC, não houve diferença estatística significante ($p>0,05$) entre os momentos.

Entre os momentos dos diferentes grupos, houve uma diferença estatística significativa no momento M1 do grupo G1 VC quando comparado com o momento M1 dos grupos G2 VC e G3 VC, sendo que no grupo G1 VC o valor médio é estatisticamente menor. O momento M2 do grupo G1 VC mostrou-se significativamente menor do que nos mesmos momentos no grupo G2 VC e G3 VC. O momento M3 do grupo G1 VC não é diferente estatisticamente quando comparado ao mesmo momento dos grupos G2 VC e G3 VC.

5.5.4 NÚMERO DE HEMÁCIAS

Os valores individuais do numero de hemácias dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 32).

A tabela 26 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, do número de hemácias dos animais dos vários grupos que foram inoculados com veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 26 ilustra os valores médios do numero de hemácias dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

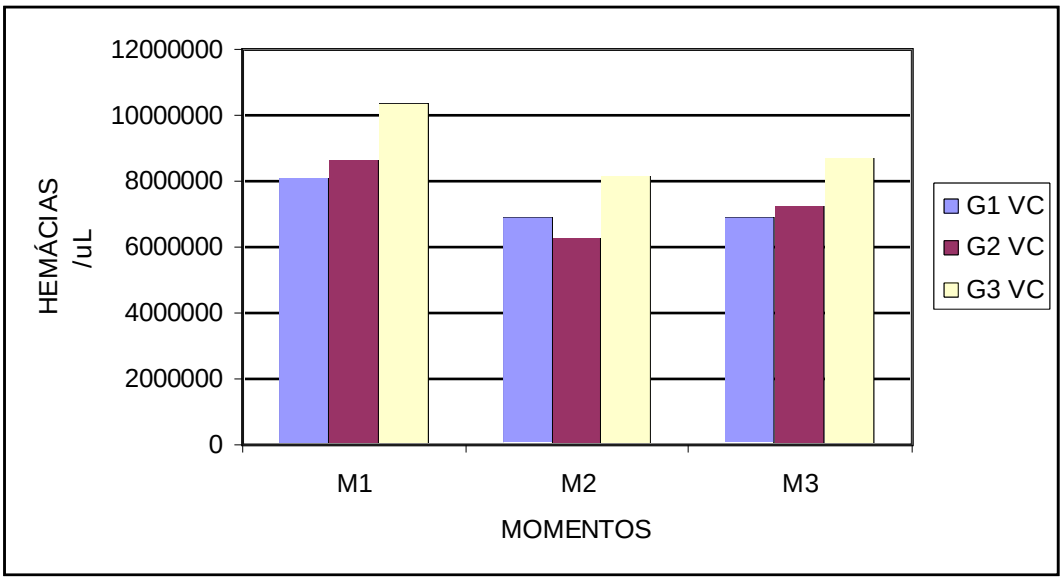
TABELA 26 - Valores médios e desvio padrão do número de hemácias (/µL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

Hemácias	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	8.111.666,67 ±469.656 Ba	8.643.333,33 ±623.560 Ba	10.378.333,33 ±1.007.083,25 Aa
M2	6.930.000,00 ±389.057 Bb	6.278.333,33 ±778.085 Bb	8.173.333,33 ±635.945 Ab
M3	6.890.000,00 ±261.304 Bb	7.285.000,00 ±838.970 Bb	8.740.000,00 ±482.866 Ab

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Hemácias5.430.000 – 10.430.000 /µL (UNOESTE, 2008)

GRÁFICO 26 - Valores das médias das hemácias (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



Houve diferença estatística significativa entre os momentos dentro do grupo G3 VC, sendo que o momento M1 é estatisticamente maior que o M2 e M3. No grupo G1 VC, o momento M1 é estatisticamente maior quando comparado com os momentos M2 e M3 e no grupo G2 VC, também o momento M1 é estatisticamente maior que os momentos M2 e M3.

Entre os momentos em diferentes grupos, o momento M1 do grupo G3 VC tem o valor médio estatisticamente ($p<0,05$) maior que nos grupos G1 VC e G2 VC. O mesmo ocorreu nos momentos M2 e M3.

5.5.5 HEMOGLOBINA

Os valores individuais da hemoglobina dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 33).

A tabela 27 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da hemoglobina dos animais dos vários grupos que foram inoculados com veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 27 ilustra os valores médios da hemoglobina dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

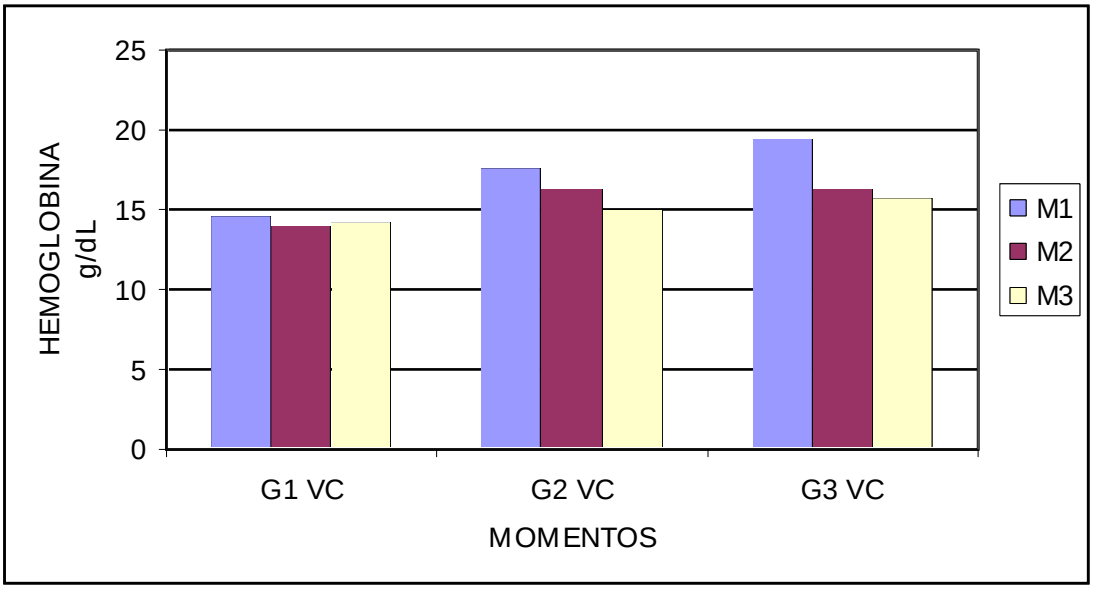
TABELA 27 – Valores médios e desvio padrão de hemoglobina (g/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

Hemoglobina	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	14,58 ±0,2 Ca	17,57 ±0,4 Ba	19,56 ±1,0 Aa
M2	13,95 ±0,6 Ba	16,33 ±1,38 Aab	16,35 ±0,1 Ab
M3	14,25 ±0,42 Ba	14,95 ±0,83 ABb	15,77 ±0,8 Ab

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Hemoglobina 12,2 – 17,3 g/dL (UNOESTE, 2008).

GRÁFICO 27 - Valores das médias da hemoglobina (g/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



No grupo G1 VC, não houve diferença estatística significante (p>0,05) entre os momentos dentro de cada grupo. No entanto, no grupo G2 VC, o momento M1 é estatisticamente maior quando comparado como o momento M3 e no grupo G3 VC, o momento M1 é estatisticamente maior que os momentos M2 e M3.

Entre os momentos em diferentes grupos, o momento M1 do grupo G1 VC é estatisticamente menor do que no grupo G2 VC e o momento M1 do grupo G3 VC é estatisticamente (p<0,05) maior que o mesmo momento no grupo G2 VC. No momento M2, o grupo G1 VC é estatisticamente menor quando comparado com o grupo G2 VC e G3 VC. O momento M3 do grupo G3 VC é estatisticamente maior que o mesmo momento no grupo G1 VC (p<0,05).

5.5.6 VOLUME GLOBULAR (VG)

Os valores individuais do volume globular dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 34).

A tabela 28 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, do volume globular dos animais dos vários grupos que foram inoculados com veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação e o

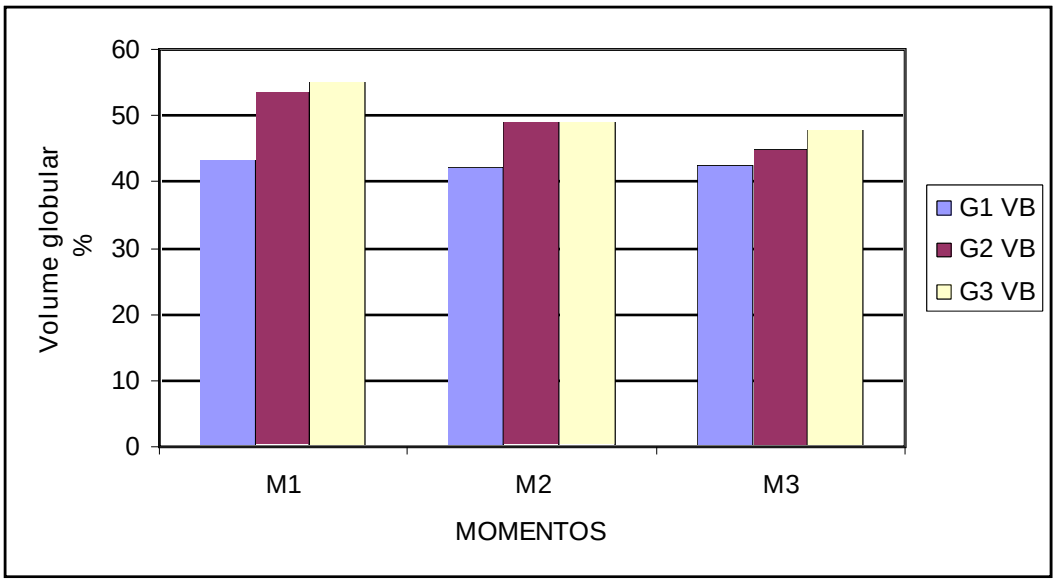
gráfico 28 ilustra os valores médios do volume globular dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

TABELA 28 - Valores médios e desvio padrão de volume globular (VG) (%) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

VG	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	43,50 ±1,04 Ba	53,67 ±1,96 Aa	55,23 ±3,87 Aa
M2	42,17 ±1,32 Ba	49,00 ±3,68 Ab	49,17 ±1,32 Ab
M3	42,50 ±0,54 Ba	45,00 ±2,68 ABb	47,83 ±2,4 Ab

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05) A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Volume globular 36 – 52% (UNOESTE, 2008).

GRÁFICOS 28 - Valores das médias do volume globular (%) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



No grupo G1 VC, não houve diferença estatística entre os momentos. Porem no grupo G2 VC, o momento M1 é estatisticamente maior (p<0,05) que os momentos M2 e M3 e o mesmo ocorreu no grupo G3 VC.

Entre os momentos em diferentes grupos, o momento M1 do grupo G1 VC é estatisticamente menor (p<0,05) que o mesmo momento nos grupos G2

VC e G3 VC. O momento M2 do grupo G1 VC é estatisticamente menor (p<0,05) que os mesmos momentos nos grupos G2 VC e G3 VC. O momento M3 do grupo G3 VC é estatisticamente maior (p<0,05) que o mesmo momento no grupo G1 VC.

5.5.7 NÚMERO TOTAL DE LEUCÓCITOS

Os valores individuais do número total de leucócitos dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 35).

A tabela 29 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey do número total de leucócitos dos animais dos vários grupos que foram inoculados veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 29 ilustra os valores médios do número total de leucócitos dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

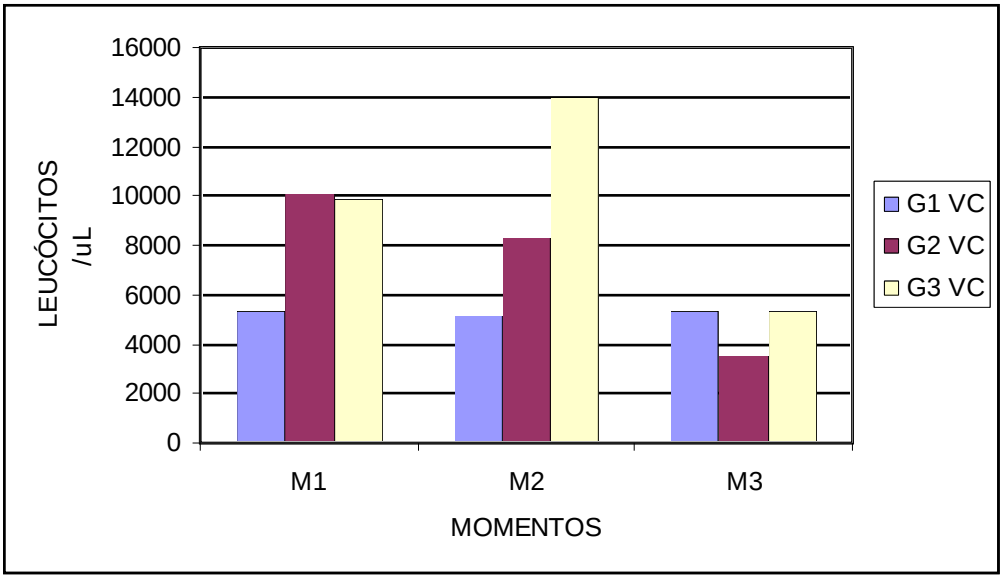
TABELA 29 – Valores médios e desvio padrão do número total de leucócitos (/µL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

Leucócitos	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	5.333,33 ±1.087,5 Ba	10.083,33 ±3.185,9 Aa	9.883,33 ±2.472,6 Aab
M2	5.183,33 ±670,57 Ba	8.333,33 ±2.739,8 Ba	14.016,70 ±5.093,7 Aa
M3	5.366,67 ± 939,5 Aa	3.583,33 ±1.049,6 Ab	5.300,00 ±2.383,3 Ab

a, b – em cada linha, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Número total de leucócitos 4.100 - 15.600 /µL (UNOESTE, 2008).

GRÁFICO 29 - Valores das médias do número total de leucócitos (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação.



Não houve diferença estatística significativa entre os momentos no grupo G1 VC. No grupo G2 VC, o momento M3 é estatisticamente menor que os momentos M1 e M2. O momento M2 do grupo G3 VC é estatisticamente maior que o momento M3.

Não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$) nos momentos M3 entre grupos. No momento M2 o grupo G3 VC é estatisticamente maior que os grupos G1 VC e G2 VC. O momento M1 do grupo G2 VC e do grupo G3 VC são estatisticamente maiores ($p<0,05$) que o mesmo momento no grupo G1 VC.

5.5.8 NÚMERO DE NEUTRÓFILOS

Os valores individuais do número de neutrófilos dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 36).

A tabela 30 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, do número de neutrófilos dos animais dos vários grupos que foram inoculados com veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação

e o gráfico 30 ilustra os valores médios do número de neutrófilos dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

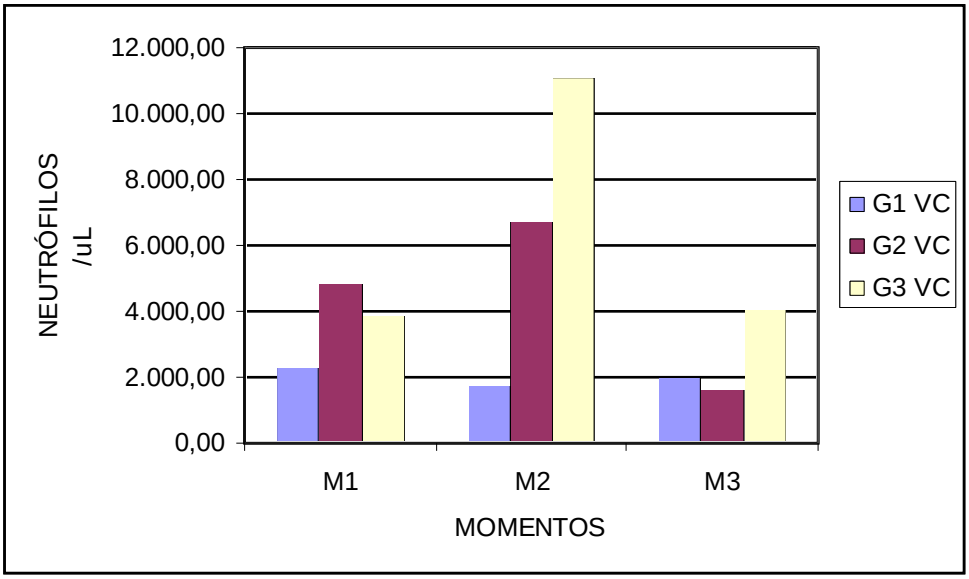
TABELA 30 - Valores médios e desvio padrão do número de neutrófilos (/µL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

Neutrófilos	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	2.294,17 ±548,48 Ba	4.874,50 ±1.180,7 Aa	3.862,50 ±1.060,2 Bb
M2	1.783,67 ±380,08 Ba	6.748,17 ±2.195,4 Aa	11.079,20 ±4591,3 Aa
M3	2.013,00 ±205,83 Ba	1.665,00 ±517,87 Bb	4.031,50 ±1.825,7 Ab

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05) Neutrófilos 492 - 5.640 /µL (UNOESTE, 2008)

GRÁFICO 30 - Valores das médias do número de neutrófilos (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



No grupo G1 VC, não houve diferença estatística entre os momentos. No grupo G2 VC, o valor médio do M3 é menor estatisticamente do que os momentos M1 e M2. Os momentos M1 e M3 do grupo G3 VC são estatisticamente menores ($p<0,05$) que o momento M2 do mesmo grupo.

O momento M1 dos grupos G1 VC e G3 VC são menores estatisticamente ($p<0,05$) que o momento no grupo G2 VC. O momento M2 do grupo G1 VC tem o valor médio menor que o mesmo momento nos grupos G2 VC e G3 VC. No momento M3 do grupo G3 VC é estatisticamente maior que o mesmo momento nos grupos G1 VC e G2 VC.

5.5.9 NÚMERO DE LINFÓCITOS

Os valores individuais do número de linfócitos dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 37).

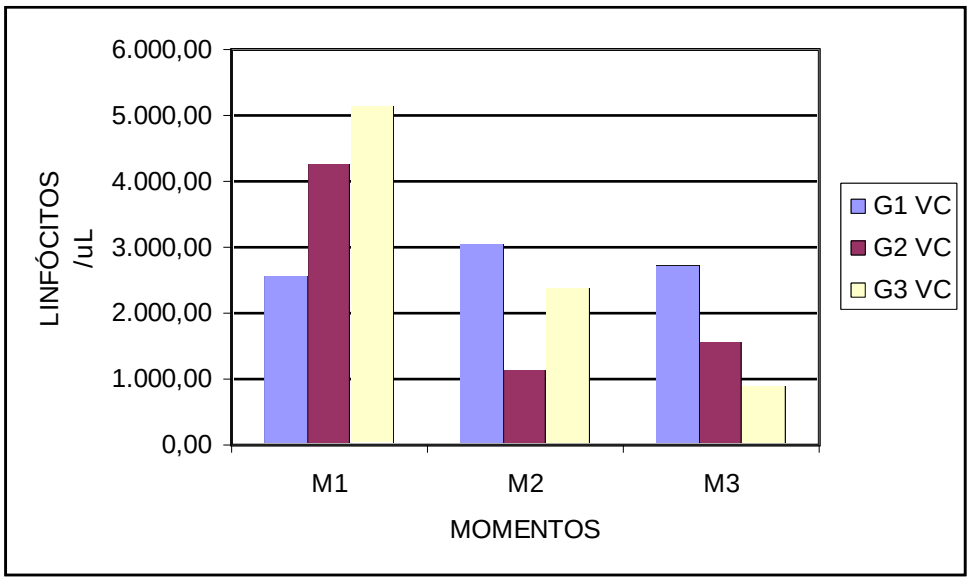
A tabela 31 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, do número de linfócitos dos animais dos vários grupos que foram inoculados com veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 31 ilustra os valores médios do número de linfócitos dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

TABELA 31 – Valores médios e desvio padrão do número de linfócitos (/µL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

Linfócitos	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	2.565,50 ±490,95 Ba	4.274,00 ±2.179,6 ABa	5.165,70 ±1.726,5 Aa
M2	3.072,50 ±574,40 Aa	1.166,33 ±548,71 Bb	2.378,83 ±696,82 Ab
M3	2.730,50 ±871,64 Aa	1.579,17 ±480,66 ABb	904,83 ±710,10 Bb

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05) A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Linfócitos 2.091 – 10.920 /µL (UNOESTE, 2008).

GRÁFICO 31 - Valores das médias do número de linfócitos (/µL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



No grupo G1 VC, não houve diferença estatística entre os momentos. No grupo G2 VC, o momento M1 é estatisticamente maior que os momentos M2 e M3, e no grupo G3 VC, o momento M1 é estatisticamente maior que os momentos M2 e M3.

Não houve diferença estatística entre o momento M1 do grupo G1 VC e o do grupo G2 VC, no entanto no grupo G3 VC, o valor médio foi maior estatisticamente ($p<0,05$) que no mesmo momento no grupo G1 VC. No momento M2, o grupo G2 VC é estatisticamente menor que os grupos G1 VC e G3 VC. O momento M3 do grupo G1 VC é estatisticamente maior que o mesmo momento do grupo G3 VC.

5.5.10 PROTEÍNA PLASMÁTICA TOTAL (PPT)

Os valores individuais da proteína plasmática total dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 38).

A tabela 32 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, da proteína plasmática total dos animais dos vários grupos que

foram inoculados com veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 32 ilustra os valores médios da proteína plasmática total dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

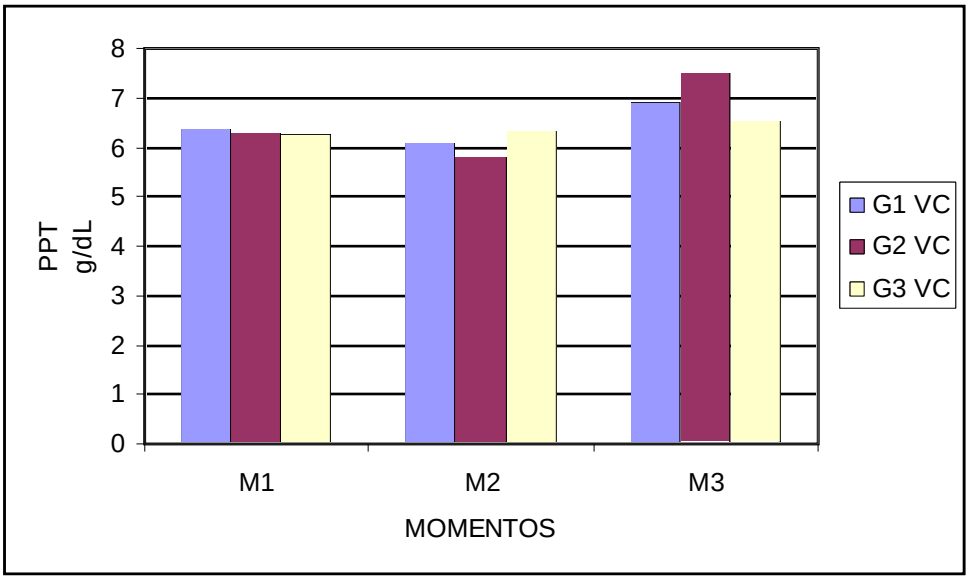
TABELA 32 – Valores médios e desvio padrão de proteína plasmática total (PPT) (g/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

PPT	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	6,40 ±0,12 Ab	6,30 ±0,41 Ab	6,267 ±0,37 Aa
M2	6,10 ±0,27 Ab	5,83 ±0,34 Ab	6,33 ±0,30 Aa
M3	6,90 ±0,20 Ba	7,53 ±0,35 Aa	6,53 ±0,56 Ba

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Proteína plasmática total 6,0 – 8,0 g/dL (UNOESTE, 2008)

GRÁFICO 32 - Valores das médias da PPT (g/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



No grupo G1 VC, o momento M3 é estatisticamente maior que os momentos M1 e M2 e no grupo G2 VC, também, o momento M3 teve valor

médio maior que os momentos M1 e M2. No grupo G3 VC, não houve diferença estatística entre os momentos.

No momento M1, não houve diferença estatística quando comparado ao mesmo momento do grupo G2 VC. O momento M2 do grupo G2 VC é estatisticamente menor que o mesmo momento no grupo G3 VC. O momento M3 do grupo G2 VC é estatisticamente maior que o mesmo momento nos grupos G1 VC e G3 VC.

5.5.11 FIBRINOGÊNIO

Os valores individuais de fibrinogênio dos animais dos grupos estão anexos (ANEXO – Quadro 39).

A tabela 33 mostra os valores médios e a comparação das médias pelo teste de Tukey, de fibrinogênio dos animais dos vários grupos que foram inoculados com veneno crotálico, nos diferentes momentos de avaliação e o gráfico 33 ilustra os valores médios de fibrinogênio dos animais dos grupos nos diferentes momentos de avaliação.

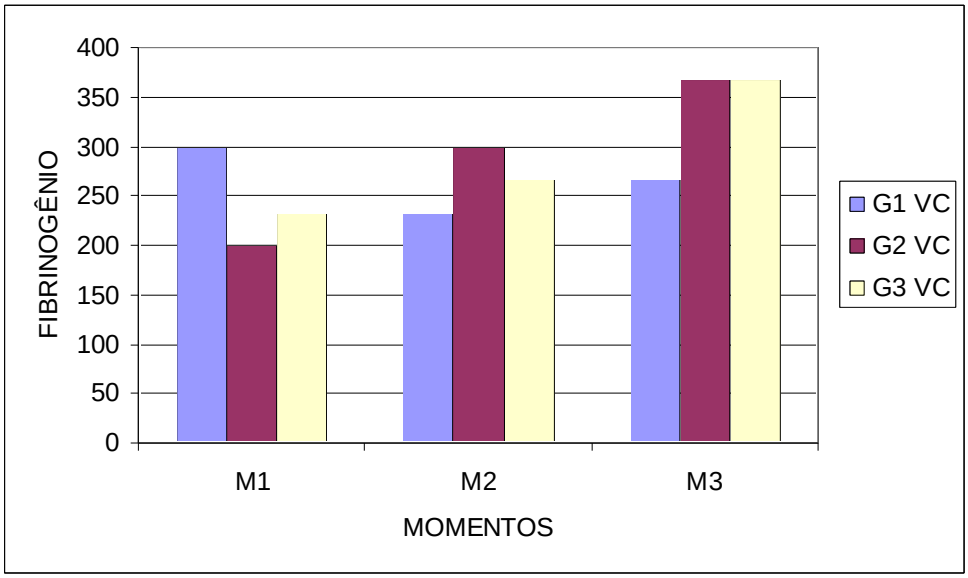
TABELA 33 - Valores médios e desvio padrão de fibrinogênio (mg/dL) e comparação das médias pelo teste de Tukey, após a inoculação do veneno crotálico, em ratos.

Fibrinogênio	G1 VC	G2 VC	G3 VC
M1	300,00	200,00	233,33
	±109,54 Aa	±0 Aa	±81,65 Aa
M2	233,33	300,00	266,67
	±81,650 Aa	±109,54 Aa	±103,28 Aa
M3	266,67	366,67	366,67
	±103,28 Aa	±150,55 Aa	±81,333 Aa

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

A, B – em cada linha, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). Fibrinogênio 100 – 400 mg/dL (UNOESTE, 2008).

GRÁFICO 33. Valores das médias do fibrinogênio (mg/dL) dos ratos em diferentes momentos após inoculação do veneno crotálico.



Não houve diferença estatística entre os momentos no grupo G1 VC e o mesmo ocorreu nos grupos G2 VC e G3 VC.

Não houve diferença estatística entre o momento M1 dos grupos G1 VC, G2 VC e G3 VC e o mesmo ocorreu com os momentos M2 e M3.

5.6 ACHADOS HITOPATOLÓGICOS DO VENENO CROTÁLICO

5.6.1 ALTERAÇÕES MUSCULARES

As alterações musculares (degeneração, necrose de coagulação, regeneração de fibra, edema, congestão e hemorragia) foram avaliadas por meio de escore onde (1) significa discreta, (2) moderada e (3) acentuada. O quadro 6 mostra o número de animais que apresentou lesões histopatológicas no momento M3 dentro de cada grupo.

QUADRO 6 – Número de animais que apresentaram lesões histológicas na musculatura no momento M3, em ratos inoculados com veneno da serpente Crotalus durissus terrificus.

Lesão ↓	Escores →	1	2	3	Grupos
		N° de animais			
Degeneração (Fig. 14)		2/6	0/6	0/6	G1 VC
		0/6	3/6	3/6	G2 VC
		1/6	4/6	1/6	G3 VC
Necrose de coagulação		2/6	0/6	0/6	G1 VC
		0/6	3/6	3/6	G2 VC
		1/6	3/6	1/6	G3 VC
Regeneração de fibra		0/6	0/6	0/6	G1 VC
		2/6	4/6	0/6	G2 VC
		3/6	1/6	0/6	G3 VC
Edema (Fig. 14)		6/6	0/6	0/6	G1 VC
		0/6	5/6	1/6	G2 VC
		0/6	3/6	3/6	G3 VC
Congestão		3/6	0/6	0/6	G1 VC
		4/6	0/6	0/6	G2 VC
		5/6	0/6	0/6	G3 VC
Hemorragia		0/6	0/6	0/6	G1 VC
		2/6	0/6	6/6	G2 VC
		2/6	0/6	0/6	G3 VC

G1 VB – Controle (solução salina intramuscular) + água (gavage), G2 VB – Veneno botrópico + soro antiofídico e G3 VB – Veneno botrópico + soro antiofídico + Mikania glomerata.

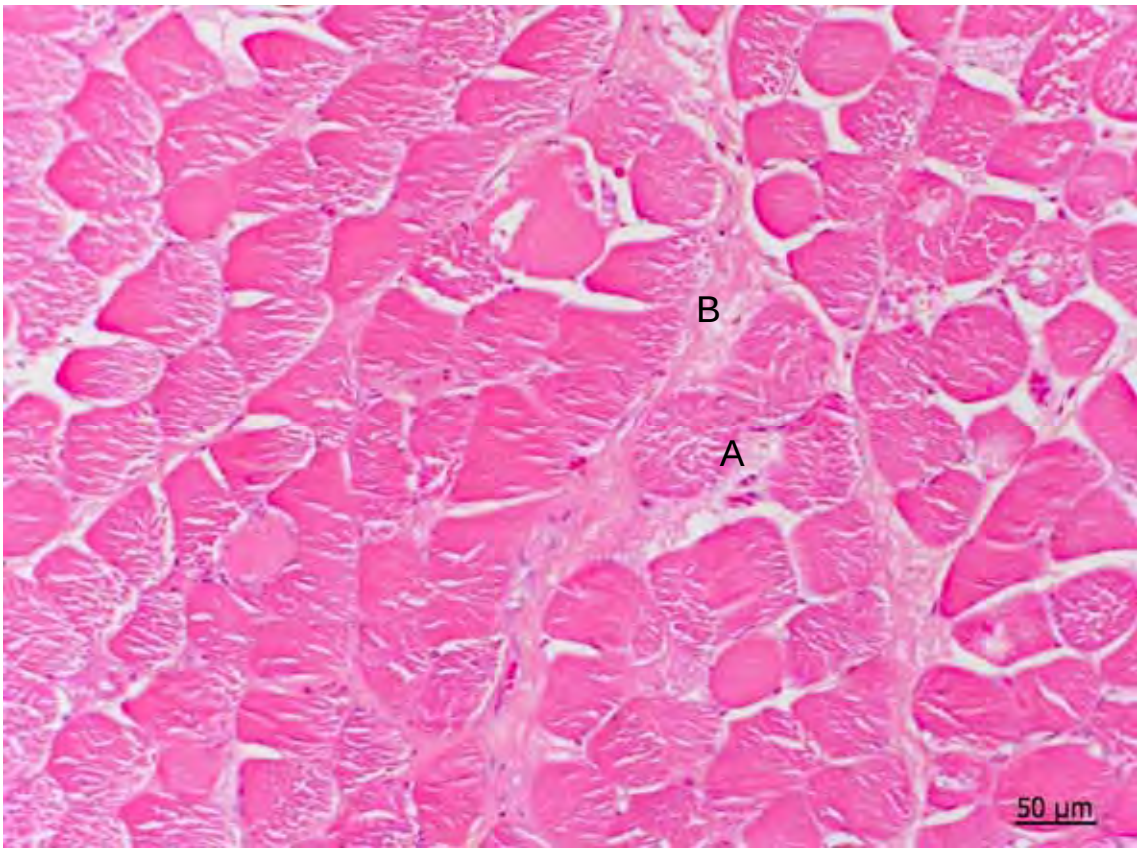


Figura 14. Lesões em musculatura do membro posterior esquerdo 24 horas após a inoculação do veneno crotálico. A – Degeneração e B – Edema (H&E,20x).

5.6.2 ALTERAÇÕES RENAIS

As alterações renais foram avaliadas por meio de escores onde (1) significava discreta, (2) moderada e (3) acentuada. O quadro 7 mostra o número de animais que apresentou lesões histopatológicas no momento M3 dentro de cada grupo.

Quadro 7 – Número de animais que apresentou lesões histológicas renais no momento M3, em ratos inoculados com veneno da serpente Crotalus durissus terrificus.

Lesão ↓	Escores →	1	2	3	Grupos
		N° de animais			
Degeneração hidrópica renal (Fig. 15)		5/6	1/6	0/6	G1 VC
		0/6	4/6	2/6	G2 VC
		1/6	5/6	0/6	G3 VC
Necrose tubular aguda (Fig. 16)		3/6	0/6	0/6	G1 VC
		2/6	4/6	0/6	G2 VC
		1/6	5/6	0/6	G3 VC
Congestão		4/6	0/6	0/6	G1 VC
		3/6	3/6	0/6	G2 VC
		1/6	5/6	0/6	G3 VC
Hemorragia		0/6	0/6	0/6	G1 VC
		4/6	0/6	0/6	G2 VC
		0/6	0/6	0/6	G3 VC

G1 VC – Controle (solução salina intramuscular) + água (gavage)

G2 VC – Veneno crotálico + soro antiofídico

G3 VC – Veneno crotálico + soro antiofídico + Mikania glomerata

Em relação à hemorragia, os animais do grupo G2 VB mesmo não tendo apresentado hemorragia moderada ou acentuada, foi observada em 4 animais hemorragia discreta.

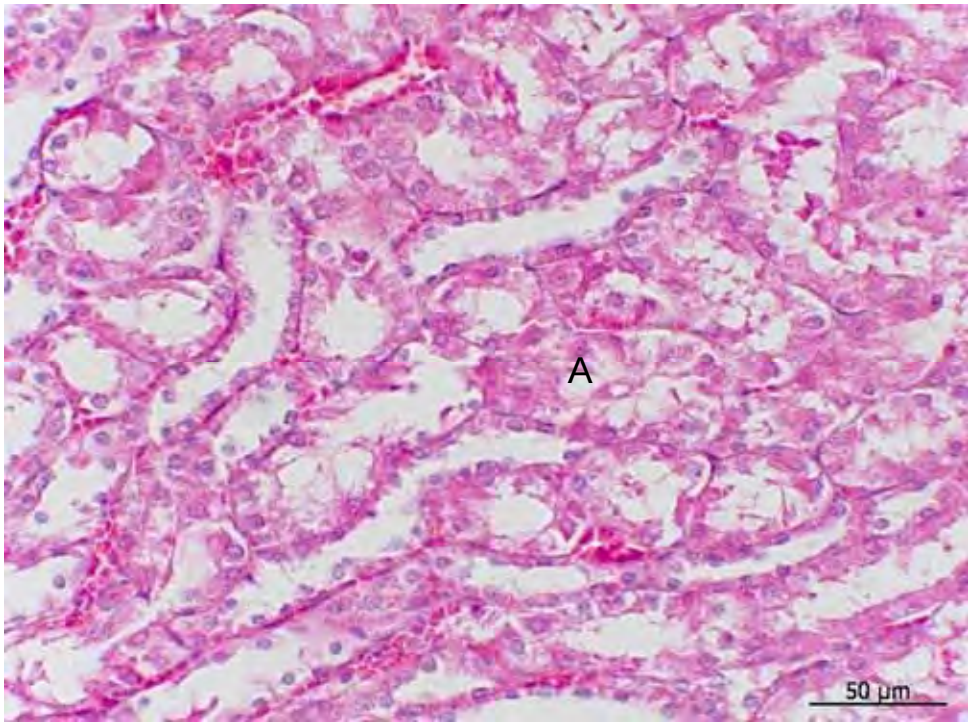


Figura 15. Lesões renal 24 horas após a inoculação do veneno botrópico. A – Degeneração hidrópica renal (H&E, 40x)

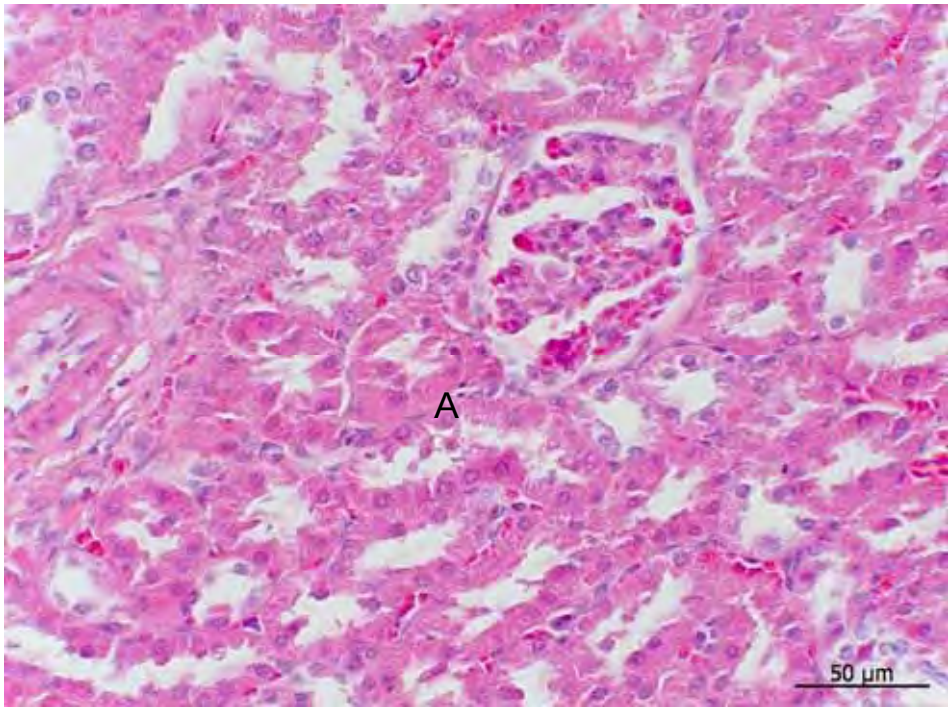


Figura 16. Lesões renal 24 horas após a inoculação do veneno crotálico. A – Necrose tubular aguda (H&E, 40x)

Discussão

6. DISCUSSÃO

6.0 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O presente estudo teve como objetivo avaliar alterações clínicas, laboratoriais e histopatológicas das intoxicações experimentais pelos venenos botrópico e crotálico, como também a ação do extrato de Mikania glomerata como tratamento complementar nos casos de acidentes ofídicos causados por serpentes dos gêneros Bothrops e Crotalus.

A dose do veneno (botrópico ou crotálico) foi encontrada por meio de um experimento piloto onde foram testadas várias doses do veneno até ser encontrada a dose em que os animais apresentavam alterações clínicas compatíveis com a intoxicação e sem o óbito após 24 horas da inoculação do veneno. Assim, a dose usada neste estudo foi de 10 mg/kg de peso vivo.

O tratamento foi preconizado com a ajuda de um experimento piloto. O volume do extrato de Mikania glomerata foi de 3 mL de extrato a 10%, sendo administrado 1 mL, por gavage, a cada duas horas após a inoculação do veneno (botrópico ou crotálico). A soroterapia foi realizada após 6 horas da aplicação do veneno usando o soro comercial antibotrópico-crotálico da Vencofarma ® e a dose foi estipulada pela quantidade de veneno em mg inoculada em cada animal, sendo que 1 mL do soro neutraliza 2 mg do veneno botrópico e 1 mg do veneno crotálico (FERREIRA JUNIOR & BARRAVIERA, 2004).

6.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA DO VENENO BOTRÓPICO

Em cada momento, foram avaliados temperatura retal, freqüências respiratória e cardíaca, locomoção e grau de sedação.

6.1.1 TEMPERATURA RETAL

A hipotermia pode estar relacionada ao quadro de choque que se pode instalar devido à liberação de agentes vasoativos na anafilaxia. A síndrome determina distúrbio circulatório caracterizado por hipotensão arterial ou artério-venosa comprometendo a perfusão tecidual (RAISER, 2002). O veneno botrópico, além de causar hemorragias que poderiam ter relação com a hipotermia, também causa hipotensão arterial por um composto conhecido como bradicinina e isso também poderia ser uma causa de hipotermia (ROSENFELD, 1971; PINHO & PEREIRA, 2001; MILANI et al., 1997; SANTOS et al., 2003). Os achados do presente estudo estão de acordo com os da literatura pois os animais do grupo G2 VB e os do G3 VB apresentaram hipotermia no momento M2.

6.1.2 FREQUENCIA RESPIRATÓRIA

Neste estudo, os animais apresentaram dispnéia após a inoculação do veneno, de intensidade leve. No grupo G2 VB, os animais apresentaram pequena diminuição da freqüência no momento M2, mas não foi estatisticamente significante e estes valores permaneceram dentro dos de referência para a espécie de acordo com Unoeste (2008). Os animais do grupo G3 VB não apresentaram diminuição da freqüência respiratória em nenhum momento e quando comparados aos do grupo controle, mostra que o extrato aquoso de Mikania glomerata teve uma boa eficiência em relação à freqüência respiratória. Ribeiro (1998) observou, em seu estudo, que uma das causas de óbitos por acidente botrópico grave é a insuficiência respiratória que ocorreu em 53,3% dos pacientes que vieram a óbito, além da presença de embolia pulmonar e pneumonia (RIBEIRO et al., 1998). Silvia et al. (2006) observaram, em seu estudo, que o veneno botrópico além de ter efeitos locais, produz também alterações na estrutura de alguns orgãos dentre estes, o pulmão.

6.1.3 FREQUENCIA CARDÍACA

Não houve alterações significantes em relação à freqüência cardíaca. Silvia et al. (2006) encontraram alterações no peso do coração, em ratos envenenados experimentalmente com veneno botrópico, em até uma hora após a inoculação do veneno. Perez et al. (1997b) e Santos et al. (2003) observaram, em seu experimento com cães, uma taquicardia logo após a aplicação do veneno de Bothrops alternatus, o que vem a contrapor o resultado observado no presente trabalho, onde foi observada a bradicardia nos animais logo após a inoculação.

6.1.4 EDEMA DE MEMBRO DIREITO

O edema no membro colateral (membro direito) foi maior nos grupos G2 VB no momento M1 e G3 VB no momento M3 quando comparados com o grupo controle. Na comparação entre esses dois grupos, não houve diferença estatística o que também foi observado por Silva et al. (2006) que não encontraram muita variação no diâmetro do membro colateral de ratos Wistar, inoculados com veneno botrópico.

6.1.5 EDEMA DE MEMBRO ESQUERDO

O veneno botrópico causa o aparecimento de edema, equimose, bolhas hemorrágicas e necrose tecidual (SILVIA et al., 2006).

Segundo o Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos, publicado pelo Ministério da Saúde (2001), nos acidentes botrópicos classificados como leves, os pacientes apresentam dor e edema locais pouco intensos. Naqueles classificados como moderados, observam-se dor e edema evidentes. Os acidentes graves, por sua vez, são caracterizados por edema local de longa duração, intenso e extenso, podendo atingir todo o membro picado, geralmente acompanhado de dor intensa e, eventualmente

com a presença de bolhas. Em decorrência do edema, podem aparecer sinais de isquemia local devido à compressão dos feixes vásculo-nervosos. No presente trabalho, foi observada dor intensa no local da inoculação do veneno com a formação do edema intenso após 30 minutos, e os sinais de isquemia no local estavam também evidentes.

Os animais tiveram um edema acentuado na pata onde foi inoculado o veneno botrópico em relação aos animais do grupo controle (G1 VB), o que vem de acordo com a literatura sobre a ação local do veneno botrópico (PINHO & PEREIRA, 2001; AGOSTINI UTESCHER et al., 1994; JORGE E RIBEIRO, 1997; RIBEIRO & JORGE, 1990; SILVIA et al., 2006; PEREZ et al., 1997a; CASTRO 2006). Todos os animais apresentaram, no local onde foi inoculado o veneno botrópico, em 30 minutos após a aplicação, além do edema acentuado, eritema, dor e necrose, concordando com as literaturas que relatam o aparecimento de edema, eritema, hemorragias, petéquias, dor, pústulas, equimoses e necrose no local da inoculação (BRASIL, 2001; CASTRO, 2006; AZEVEDO-MARQUES et al., 2003). Não houve diferença entre os tratamentos, mostrando a pouca eficácia do extrato da folha de Mikania glomerata na redução ou prevenção de formação de edema quando medido com o paquímetro.

6.1.6 LOCOMOÇÃO E GRAU DE SEDAÇÃO

O veneno botrópico, diferentemente dos outros tipos de venenos de serpentes peçonhentas, não possui ação neurotóxica (PINHO & PEREIRA, 2001; BRASIL, 2001, FERREIRA JUNIOR & BARRAVIERA, 2004). No entanto, alguns autores observaram efeitos neurotóxicos nas serpentes Bothrops jararacussu, e em alguns casos, esses efeitos neurotóxicos estão relacionados a acidente vascular cerebral (MILANI et al., 1997; SANTOS-SOARES et al., 2007).

No presente estudo, dois animais apresentaram, no momento M3 (24 horas após a inoculação) do grupo G2 VB e no momento M2 do grupo G3 VB, grau de sedação moderado podendo estar de acordo com alguns achados na

literatura que referem ao acidente vascular cerebral (MILANI et al., 1997; SANTOS-SOARES et al., 2007). Nesse caso, mais estudos são necessários como, por exemplo, a histopatologia do encéfalo. Em relação à locomoção, não foi observada, em nenhum animal, a ausência desta após a inoculação do veneno botrópico, o que está de acordo com os dados do Oliveira et al. (2003) que demonstraram a ausência de neurotoxicidade no envenenamento botrópico.

6.1.7 OBSERVAÇÃO DE COAGULAÇÃO

Três animais do grupo G2 VB e 3 animais do grupo G3 VB apresentaram, após seis horas (M2) da aplicação do veneno botrópico, incoagulabilidade sangüínea, concordando assim com os dados da literatura (PEREZ et al., 1997b; FERREIRA JUNIOR & BARRAVIERA, 2004). Não houve diferença entre os tratamentos, evidenciando assim a ineficiência do extrato de folha de Mikania glomerata na prevenção para este parâmetro.

6.2 AVALIAÇÃO LABORATORIAL DO VENENO BOTRÓPICO

6.2.1 URÉIA E CREATININA

A avaliação da função renal engloba análise de parâmetros sanguíneos, como nitrogênio uréico ou BUN, creatinina, eletrólitos e também urinálise. Ocorre o aumento do teor plasmático do nitrogênio uréico e de creatinina apenas quando há comprometimento de mais de 75% da função renal, e as causas mais comuns de azotemia em roedores são amiloidose, nefropatias imunomediadas e doenças policísticas (THRALL, 2007).

O valor médio da uréia apresentou aumento nos momentos M1 e M2 nos grupos G2 VB e G3 VB quando comparados com o grupo G1 VB. As causas para o aumento de uréia, segundo Tilley e Smith (2003), são: aumento na produção de substâncias protéicas nitrogenadas, diminuição na taxa de filtração glomerular e por obstrução do trato urinário inferior. A uréia é

produzida pelo fígado e representa o principal produto do catabolismo das proteínas e a creatinina é formada durante o metabolismo da musculatura esquelética. A uréia e a creatinina são indicadores de filtração glomerular e apenas a uréia é influenciada pela dieta ou por hemorragias intestinais (MEYER et al., 1995). No caso do aumento da uréia encontrado nos animais do grupo G2 VB e G3 VB, o fato pode ser explicado pela ação nefrotóxica do veneno botrópico e por hipovolemia causada pelo veneno (ROSENFELD, 1971 e PINHO & PEREIRA, 2001).

Em relação à creatinina, os animais dos grupos G2 VB e G3 VB, nos momentos M2 e M3, apresentaram aumento desta, quando comparados com o grupo controle (G1 VB). O veneno botrópico, em concentrações subletais, causa alterações funcionais renais, como diminuição da filtração glomerular, da diurese e do fluxo plasmático renal, ação proteolítica nas células do epitélio renal e deposição de fibrina nos capilares glomerulares, em ratos (BURDMANN et al., 1993; BOER-LIMA et al., 1999; CASTRO, 2006).

Não foram observadas diferenças significantes entre os tratamentos, em relação à uréia e a creatinina, mostrando que o extrato de Mikania glomerata não é eficaz no controle destas.

6.2.2 CREATINA QUINASE

A creatina quinase (CK) é uma enzima dimérica presente no citosol, composta de subunidades M e B (KANEKO, 1997). A CK é um importante marcador de lesões musculares (músculos esquelético e cardíaco) e de tecido cerebral (TILLEY & SMITH, 2003; THRALL, 2007). No grupo G2 VB, houve um aumento no valor da CK, 30 minutos após a aplicação do veneno botrópico (M1) quando comparado com o grupo controle (G1 VB), concordando com os dados de Calil – Elias et al. (2002) e Melo et al. (1987) que demonstraram aumento da CK, em ratos inoculados com veneno botrópico. Takahira (1996; 1999) também observou aumento nos valores de CK em cães intoxicados com veneno da serpente Bothrops jararaca. O grupo G3 VB, no momento M2, teve um valor médio maior do que quando comparado com grupo G2 VB e o grupo

G1 VB (controle), e esse aumento pode ter ocorrido por sensibilidade individual de cada animal ao veneno. Nesse grupo, os animais receberam 1 mL de extrato de Mikania glomerata por gavage em 3 entre-momentos. No momento M3, os valores encontrados nos 3 grupos foram semelhantes estatisticamente e quando comparados os tratamentos no momento M3, não houve diferença entre eles, concordando com a afirmação de que a atividade da CK volta ao normal entre 24 a 48 horas após a lesão (TILLEY & SMITH, 2003).

6.2.3 HEMOGRAMA

O valor não alterado no número de hemácias no momento M1 dos grupos G1 VB (controle) e G2 VB (veneno botrópico) concorda com Santoro et al. (2008) que também não encontraram diferença estatística significativa entre pacientes com envenenamento leve. Sendo que, o momento M1 (30 minutos após a inoculação), os animais ainda não apresentavam sinais de intoxicação.

No momento M2, o grupo G3 VB mostrou um valor médio das hemácias maior que o momento M2 do grupo G2 VB, voltando a não ser estatisticamente significante após 24 horas da inoculação (M3). A queda leve, após a intoxicação pode ser devido a hemorragias locais e sistêmicas que ocorrem no envenenamento por serpentes do gênero Bothrops (SANTOS et al., 2003; SANTORO et al., 2008). A queda do número de hemácias, hemoglobina e volume globular (VG) ocorrida entre os momentos no grupo G2 VB foi também observada no grupo G3 VB, concordando com Takahira (1999) que observou, em intoxicação experimental com veneno botrópico em cães, a diminuição destes valores a partir de 2 horas da inoculação do veneno.

O valor médio da proteína plasmática total (PPT), em todos os momentos nos grupos G2 VB e G3 VB, foi menor que o grupo controle (G1 VB), concordando assim com Ferreira Junior & Barraviera (2004) que relatam diminuição da PPT nos primeiros dias após a intoxicação. Takahira (1996) observou, em seu estudo com cães intoxicados com veneno botrópico, uma queda do valor médio da PPT após a inoculação do veneno botrópico e sugere

que esta queda esteja correlacionada com o aumento da permeabilidade vascular provocado pelo veneno.

Spadacci-Moreno et al. (2006) observaram hipofibrinogenemia em ratas prenhas após a inoculação experimental de veneno botrópico. Santoro & Sano-Martins (2004) observaram diminuição do valor de fibrinogênio em coelhos intoxicados experimentalmente com veneno botrópico e Takahira (1999) observou, em cães intoxicados experimentalmente, a diminuição do valor médio de fibrinogênio. No presente estudo, não foi observada diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos como também entre os momentos. Os valores mantiveram-se dentro dos valores de referências para a espécie (UNOESTE, 2008). A hipofibrinogenemia que já foi relatada por outros autores e não observada neste estudo pode ser explicada pelas diferentes técnicas usadas para quantificar o fibrinogênio.

6.2.4 LEUCOGRAMA

No momento M1, os animais dos grupos G2 VB e G3 VB apresentaram valor médio maior de leucócitos quando comparados aos do grupo G1 VB. O mesmo ocorreu no momento M2 sendo que o do grupo G3 VB foi maior ($p<0,05$) que o grupo G2 VB. A leucocitose também foi observada por Santoro et al. (2008) em pacientes humanos vitimas de ofidismo e também associada a síndrome de estresse agudo. A explicação para a leucocitose pode ser: por haver uma resposta inflamatória aguda que se caracteriza por 3 eventos principais: (1) alteração no calibre vascular, que leva a um aumento no fluxo sangüíneo, (2) mudanças estruturais na microvasculatura, permitindo que as proteínas plasmáticas e leucócitos deixem a circulação e (3), emigração de leucócitos da microcirculação e sua acumulação no foco da injúria (COLLINS, 1999; SANTOS et al., 2003). Farsky et al. (2000) demonstraram a habilidade do veneno botrópico em induzir a ativação do sistema complemento e mostrou-se efetivo no recrutamento de leucócitos in vivo.

Os grupos G2 VB e G3 VB tiveram um aumento no número de neutrófilos, sendo que o grupo que foi tratado com Mikania glomerata

apresentou maior aumento destes valores quando comparado com os do controle. Houve uma queda do número de linfócitos no momento M2 do grupo G2 VB quando comparado com o momento M1 deste grupo, e também, no momento M3, do grupo G3 VB quando comparado com os M1 e M2 deste grupo. Jain (1993) observou que os animais em estresse ou em processo inflamatório agudo têm a diminuição dos valores dos linfócitos.

Sano-Martins et al. (1995) e Santos et al. (2003) observaram uma leucocitose por neutrofilia e linfopenia em cães intoxicados experimentalmente com o veneno botrópico. Santoro et al. (2008) também observaram que pacientes humanos acidentados com serpentes Bothrops jararaca apresentavam leucocitose por neutrofilia e linfopenia.

A neutrofilia e eosinopenia demonstram a gravidade da reação inflamatória e são relacionadas à extensão da necrose no local da picada (SANTORO et al., 2008).

6.3 OBSERVAÇÃO DAS ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS CAUSADAS POR VENENO BOTRÓPICO

Foram avaliados, para esse estudo, os animais no momento 3, de todos os grupos. Os ratos foram eutanasiados e os rins e fragmentos da musculatura foram colhidos e submetidos à coloração de hematoxilina e eosina (HE).

6.3.1 ALTERAÇÕES MUSCULARES

O veneno botrópico, diferentemente do veneno crotálico, tem uma ação local mais evidente (BRASIL, 2005). Castro (2006) cita que os principais efeitos clínicos do veneno botrópico são: edema, eritema, petéquias, dor, pústulas, equimoses, bolhas, hemorragias e necrose local, os quais foram também observados no presente estudo.

Na microscopia, foram observados necrose de coagulação, edema e degeneração em todos os animais que receberam a inoculação experimental

do veneno botrópico, concordando assim com Takahira (1999) que observou, em cães intoxicados experimentalmente com veneno botrópico, a presença de edema no tecido muscular e Motta et al. (2007) que observaram presença de edema, necrose e degeneração em ratos Wistar submetidos a inoculação de veneno botrópico e tratados com soro antiofídico.

Tokarnia & Peixoto (2006) também relatam o aparecimento de necrose, hemorragias e edema após o envenenamento botrópico tanto experimental como de ocorrência natural, em bovinos.

No grupo G3 VB, os animais apresentaram edema de grau moderado em contraste com o grupo G2 VB que apresentou edema de grau acentuado, o que pode estar relacionado com o tratamento complementar com o extrato de Mikania glomerata por este apresentar ação anti-edema (MAIORANO et al., 2005).

Em relação à degeneração ou necrose de coagulação, não houve diferença entre os tratamentos, o que pode ser explicado pelo fato do extrato não ter ação anti-PLA2 do veneno botrópico (MAIORANO et al., 2005).

Todos os animais do grupo G2 VB apresentaram congestão e hemorragia, o que vem de acordo com Takahira (1999) que observou hemorragia em cães que receberam experimentalmente o veneno botrópico por via subcutânea e Motta et al. (2007) que observaram congestão e hemorragias em ratos Wistar intoxicados experimentalmente com veneno botrópico. O grupo G3 VB não apresentou hemorragias ou congestão de grau moderado ou acentuado, o que pode estar relacionado à ação anti-hemorrágica do extrato de Mikania glomerata (MAIORANO et al., 2005).

No grupo G3 VB, todos os animais apresentaram regeneração de fibra leve o que pode estar relacionado com os efeitos antiofídicos do extrato de Mikania glomerata (MAIORANO et al., 2005; SOARES et al., 2005).

6.3.2 ALTERAÇÕES RENAIS

O funcionamento da bomba de Na^+ e K^+, devido à lesão química ou tóxica, leva ao acúmulo de água no interior da célula fazendo com que haja um

influxo de H_2O para célula na tentativa do equilíbrio eletrolítico (ARMANI, 2007). Nos grupos G2 VB e G3 VB, todos os animais apresentaram degeneração hidrópica renal o que vem de acordo com Takahira (1999), que observou, em seu experimento com cães, a degeneração hidrópica renal.

A glomerulonefrite é uma das principais alterações sistêmicas e uma das principais causas de morte por intoxicação e insuficiência renal aguda (IRA), secundária à necrose tubular aguda, é glomerulonefrite (MILANI et al., 1997; BOER-LIMA et al., 1999; BRASIL, 2005). Tanto a ação direta do veneno botrópico como a ação indireta, provocando isquemia, pode induzir uma alteração tanto na morfologia como na função dos rins. A isquemia pode ser conseqüência tanto das alterações na pressão arterial como do depósito de fibrina e mioglobina nos túbulos renais (BURDMANN et al., 1993; BOER-LIMA et al., 1999; KOSCINCZUK, 2007).

Três animais do grupo G2 VB e seis animais do grupo G3 VB apresentaram necrose tubular aguda. O extrato de Mikania glomerata não é eficiente para combater a ação da fosfolipase A2 (PLA2) do veneno botrópico (MAIORANO et al., 2005), e isso seja o motivo de não ter melhora com o tratamento complementar, pois a PLA2 tem efeito citotóxico sobre as células renais (BOER-LIMA et al., 1999).

Todos os animais do grupo G2 VB e G3 VB apresentam grau de congestão, de moderado a acentuado, o que vem de acordo com Bôer-Lima et al. (1999), Koscinczuk (2007) e Motta et al. (2007) que observaram alterações renais em intoxicações experimentais com veneno botrópico. Em relação à hemorragia, todos os animais dos grupos G2 VB e G3 VB apresentaram hemorragia de grau moderado ou acentuado o que vem de acordo com a ação hemorrágica do veneno botrópico relatada por autores (CASTRO, 2006; FARSKY et al. 1999; GUTIÉRREZ & RUCAVADO, 2000). Motta et al. (2007) observaram, em experimento com veneno botrópico em ratos Wistar, a presença de hemorragias em animais eutanasiados 52 horas após a inoculação do veneno botrópico. A fosfolipase A2 tem ação citotoxica em vários tipos celulares, entre eles as celulas do epitelio renal (BOER-LIMA et al., 1999). Segundo Maiorano et al. (2005), o extrato aquoso de Mikania glomerata não

tem ação significante sobre a PLA2 do veneno botrópico, o que explicaria as lesões encontradas no grupo G3 VB.

6.4 OBSERVAÇÕES CLÍNICAS DA INTOXICAÇÃO POR VENENO CROTÁLICO

Em cada momento de avaliação, foram avaliados temperatura retal, freqüência respiratória, freqüência cardíaca, locomoção e grau de sedação.

6.4.1 TEMPERATURA

A diminuição da temperatura, observada após a inoculação do veneno crotálico em ratos, pode estar relacionada ao quadro de choque que se pode instalar devido à liberação de agentes vasoativos durante a anafilaxia. A síndrome determina distúrbio circulatório caracterizado por hipotensão arterial ou artério-venosa, comprometendo a perfusão tecidual (RAISER, 2002). Lago et al. (2000) relatam diminuição da temperatura 20 horas após a inoculação do veneno crotálico em bovinos. Nogueira e Sakate (2006) relatam diminuição significativa da temperatura 6 a 24 horas após intoxicação experimental pelo veneno crotálico em cães tratados com soro antiofídico botrópico-crotálico. Em outro trabalho envolvendo cães tratados com soro antiofídico, fluidoterapia e alcalinização da urina, os autores relatam que a avaliação da temperatura não mostrou nenhuma diferença significativa entre momentos para cada grupo nem entre grupos para cada momento (Nogueira et al. 2007a).

6.4.2 FREQÜÊNCIAS RESPIRATÓRIA E CARDIÁCA

Amaral et al. (1991) relatam insuficiência respiratória em três pacientes humanos, acidentados por serpente do gênero Crotalus, que apresentaram dispnéia e taquipnéia, sendo que dois pacientes evoluíram para insuficiência respiratória aguda, necessitando da intubação. Jorge e Ribeiro (1992) relatam quadro de insuficiência respiratória aguda que motivou intubação e/ou

traqueostomia em três pacientes, sendo duas delas crianças. Em estudo realizado por Soeresen et al. (1995) com veneno crotálico em bovinos, estes apresentaram diminuição na freqüência cardíaca. Outro trabalho com cães, também, relata a diminuição da freqüência cardíaca 4 horas após a inoculação experimental de veneno crotálico em todos os grupos estudados, apesar dos valores estarem dentro da normalidade para a espécie (NOGUEIRA & SAKATE, 2006).

Nogueira et al. (2007a), em intoxicação experimental, relatam a diminuição das freqüências respiratória e cardíaca em cães, 6 horas após a inoculação do veneno crotálico, que se mantiveram baixas até 24 horas e 48 horas, respectivamente, nos animais intoxicados com veneno e nos animais intoxicados e tratados com soroterapia, fluidoterapia e alcalinização da urina. Neste estudo, não foram observadas alterações significativas em relação à freqüência respiratória e pouco significativa quando observada a freqüência cardíaca, sendo que os valores máximos se mantiveram dentro do valor de referencia para espécie (UNOESTE, 2008), o que pode ter relação com a menor sensibilidade ao veneno ofídico dos ratos em comparação a outras espécies (ARAÚJO & BELLUOMINI, 60-62).

6.4.3 EDEMA DE MEMBRO DIREITO (EDMD)

Foi aferido o edema de membro direito para que se pudesse observar se ocorre um edema no membro colateral ao que foi inoculado experimentalmente o veneno crotálico. Houve uma diferença entre o momento M1 dos grupos G1 VB e G2 VB quando comparado com o grupo G3 VB, sendo este ultimo maior e também nos momentos M2 do grupo G2 VC e M3 do G3 VC, que também apresentaram um valor médio maior, quando comparados com o grupo controle concordando assim com Salvini et al. (2001) que observaram uma ação sistêmica do veneno sobre a musculatura esquelética.

6.4.4 EDEMA DE MEMBRO ESQUERDO (EDME)

O membro esquerdo recebeu a inoculação do veneno crotálico ou da solução salina no caso do grupo controle (G1 VC). Em todos os momentos, dos grupos G2 VC e G3 VC, houve um aumento no valor médio do edema quando comparado com o grupo G1 VC. Os resultados observados, neste estudo, concordam com uma série de autores que também citam o aparecimento de edema que se pode variar de intensidade leve a moderado. Hudelson & Hudelson (1995) citam a ação miotóxica local com presença de necrose de coagulação e necrose miolítica em camundongos. Collicchio et al. (2002) e Nogueira et al. (2007a) também citam, em cães, o aparecimento de edema discreto no membro acometido. Nos animais do grupo G3 VC no momento M2, o edema observado foi menos intenso quando comparado com os animais, no mesmo momento, do grupo G2 VC, o que demostra a ação protetora da Mikania glomerata, concordando com os resultados de Maiorano et al. (2005) que relatam que o extrato de Mikania glomerata tem ações que podem reduzir a formação de edema.

6.4.5 LOCOMOÇÃO E GRAU DE SEDAÇÃO

Os transtornos de locomoção, ataxia e sedação aparecem em decorrência da ação neurotóxica do veneno principalmente das frações crotoxina que atuam tanto em sistema nervoso central como periférico (ARAÚJO & BELLUOMINI, 1960-62, AZEVEDO-MARQUES et al. 1985, BARRAVIERA, 1994A) e também a ação da crotamina (Vieira et al. 2006). Os resultados do presente estudo concordam com os achados de Belluomini et al. (1982), que relatam, em bovinos, dificuldade de locomoção e de ficar em estação após 2 a 6 horas da inoculação do veneno crotálico. Lago et al. (2000), que realizaram envenenamento experimental crotálico, também em bovinos, relatam dificuldades de locomoção, incoordenação motora e decúbito esternal após 10 horas da inoculação do veneno. Collicchio et al. (2002) relatam o caso de uma cadela gestante picada por serpente Crotalus durissus terrificus que

apresentou dificuldades, de se manter em estação, duas horas após o acidente. Nogueira e Sakate (2006) e Nogueira et al. (2007) também relatam ataxia e sedação leve nos animais após quatro horas e seis horas, respectivamente, da administração do veneno crotálico. Neste estudo os animais apresentaram grau de sedação moderado no momento M2 dos grupos G2 VC e G3 VC. No momento M3 do grupo que recebeu o extrato (G3 VC), todos os animais apresentaram ausência de sedação ou sedação leve o que concorda com Maiorano et al. (2005) que observou a inibição da PLA2, parte da fração crotoxina, do extrato aquoso de Mikania glomerata sobre o veneno crotálico.

6.4.6 OBSERVAÇÃO DA COAGULAÇÃO

Apesar da ausência de incoagulabilidade sangüínea nos grupos G2 VC e G3 VC, esta é uma complicação freqüente em vítimas de acidente crotálico. Jorge e Ribeiro (1992) relatam alteração da coagulação em 48,1% dos pacientes humanos que deram entrada no Hospital Vital Brazil – Instituto Butantan, entre 1974 a 1990, e foi observada incoagulabilidade em 38% desses. Em avaliação de óbitos por acidente crotálico, a alteração da coagulação sanguínea ocorreu em 10 (83,3%) de 12 casos em que os dados foram obtidos (RIBEIRO et al., 1998). Nogueira et al. (2007a) citam alteração no tempo de coagulação em cães experimentalmente intoxicados com veneno crotálico uma hora após inoculação do veneno, sendo que 18 horas após administração do soro antiofídico, o tempo de coagulação retornou a normalidade naqueles tratados, mantendo-se elevado nos animais não tratados.

6.5 OBSERVAÇÕES LABORATORIAIS DO VENENO CROTÁLICO

6.5.1 URÉIA E CREATININA

Os rins são os primeiros órgãos-alvo em que a peçonha é detectada, além disto, a concentração do veneno nos rins é até 50% maior do que a

concentração plasmática, acarretando maior risco de lesão renal (GOMES et al, 2002).

A crotoxina, fração do veneno crotálico, parece ter um papel importante e responsável pela toxicidade renal direta. Pois esta tem como alvo a vasculatura renal, os glomérulos e túbulos renais. Esta toxina age aumentando a permeabilidade da vasculatura renal e causa lesão em células endoteliais, possivelmente mediada pela fosfolipase A2, principal componente da crotoxina, que ataca membranas celulares, e aumenta a permeabilidade e libera radicais peróxidos (CASTRO, 2006).

A ação do veneno crotálico sobre os rins pode ser direta causando lesões tóxicas nos túbulos renais ou indireta por meio da mioglobinúria secundária à rabdomiólise (MAGALHÃES et al., 1986; SOERENSEN, 1990).

A uréia e a creatinina são importantes marcadores de disfunção renal. O aumento da uréia e creatinina ocorrem só quando há um comprometimento de mais de 75% da função renal (THRALL, 2007).

O valor médio da uréia esteve aumentado em todos os momentos dos grupos G2 VC e G3 VC quando comparados com o grupo controle (G1 VC), concordando assim com Monteiro et al. (2001). Houve uma diferença estatística significativa ($p<0,05$) entre o momento M3 dos grupos G2 VC e G3 VC, sendo que o grupo que recebeu o tratamento com soro antiofidico e extrato aquoso de Mikania glomerata (G3 VC), o valor foi maior que no grupo com apenas o soro antiofídico (G2 VC), disconcordando assim com Maiorano et al. (2005) que observaram a total inibição da fosfolipase A2, com o uso do extrato de Mikania glomerata, que tem efeito direto nas células renais (CASTRO, 2006).

A creatinina esteve aumentada nos momentos M2 e M3 dos grupos G2 VC e G3 VC. Não houve diferença entre os tratamentos.

6.5.2 CREATINA QUINASE (CK)

O veneno crotálico tem ação miotóxica (NOGUEIRA et al., 2007; AZEVEDO-MARQUES et al., 1985; BUCARETCHI et al., 2002; FERREIRA

JUNIOR & BARRAVIERA, 2004). A CK é um importante marcador de lesões musculares (músculos esquelético e cardíaco) e de tecido cerebral (KANEKO, 1997; TILLEY & SMITH, 2003; THRALL, 2007). No presente estudo, pôde-se observar o aumento do valor médio de CK nos grupo G2 VC e G3 VC nos momentos M1 e M2, concordando assim com autores que relatam que o veneno crotálico tem efeito sobre as fibras musculares causando aumento de CK (AZEVEDO-MARQUES et al., 1985; LAGO et al., 2004). Não houve diferença estatística significante ($p>0,05$) entre os tratamentos, mostrando assim que a Mikania glomerata não é eficaz na inibição deste parâmetro.

6.5.4 HEMOGRAMA

Houve diminuição do número de hemácias, volume globular e hemoglobina após a inoculação experimental do veneno crotálico, concordando dos achados hematológicos de Nogueira et al. (2007) e Nogueira & Sakate (2006) que observaram diminuição do número de hemácias, VG e hemoglobina, em cães intoxicados experimentalmente com o veneno crotálico.

Os valores médios da proteína total plasmática mantiveram-se dentro do valor de referência para espécie (UNOESTE, 2008).

O veneno crotálico causa um grande consumo de fibrinogênio e tem como conseqüência uma hipofibrinogeneomia (SOUZA E SILVA et al., 2003). Neste estudo não foi observada a diminuição do valor médio do fibrinogênio em relação ao grupo controle, o que pode estar relacionada a, também, fato dos animais não apresentarem incoagulabilidade, tendo em vista que não houve o consumo de fibrinogênio. Segundo Araújo & Belluomini (1960-62) em seu estudo com varias espécies de animais, observaram que existe diferença na sensibilidade para cada espécie animal frente ao veneno ofídico, e nesse mesmo estudo, os ratos foram os animais que apresentaram menor sensibilidade isto é, maior resistência ao veneno e isso explicaria a ausência de incoagulabilidade esperada após a intoxicação por veneno crotálico.

6.5.5 LEUCOGRAMA

O aumento do número de leucócitos, neutrófilos e a diminuição do número de linfócitos foram observados nos grupos G2 VC e G3 VC. O aumento no número de leucócitos e neutrófilos com uma queda do numero de linfócitos é observado em acidentes ofídicos, e as causas podem ser devido a estresse por causa da dor generalizada pelo veneno ou pelo processo inflamatório agudo que também ocorre nos acidentes ofídicos (SANTORO et al., 2008; FERRIRA JUNIORO & BARRAVIERA, 2004; SOUZA E SILVA et al., 2003). Nogueira et al. (2007a) observaram, em experimento com cães, um aumento no número de leucócitos e neutrófilos e uma diminuição no número de linfócitos e eosinófilos.

6.6 OBSERVAÇÃO DAS ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS DO VENENO CROTÁLICO

6.6.1 ALTERAÇÕES MUSCULARES

A ação miotóxica do veneno crotálico já foi descrita por vários autores (AZEVEDO-MARQUES et al.,1985; KOSCINCZUK et al., 2000; NOGUEIRA & SAKATE, 2006; NOGUEIRA et al., 2007b; SANGIORGIO et al., 2008).

Foram observadas, neste estudo, lesões degenerativas e necrose de coagulação nos dois grupos onde foi inoculado o veneno crotálico, concordando assim com Motta et al. (2007) que observaram degeneração muscular e necrose em ratos Wistar inoculados experimentalmente com veneno crotálico e Sangiorgio et al. (2008) que observaram degeneração e necrose em cães intoxicados com veneno crotálico. O número de animais que apresentou degeneração ou necrose de coagulação no grupo G3 VC foi menor quando comparado ao do grupo G2 VC, o que está de acordo com Maiorano et al. (2005) que observaram que o extrato de Mikania glomerata tem ação de neutralizar a PLA2 do veneno crotálico, uma das causadoras do dano na musculatura (HUDELSON & HUDELSON, 1995; HARRIS, 2003).

Não foram observadas áreas de hemorragias e nem de congestão quando avaliados os músculos microscopicamente, discordando dos achados de Nogueira et al. (2007b), em cães, e Motta et al. (2007), em ratos.

O edema de grau moderado ou acentuado foi observado em todos os animais que foram inoculados com o veneno crotálico, concordando com a literatura onde é observado edema após a inoculação do veneno crotálico (NOGUEIRA et al., 2007b; MOTTA et al., 2007; SANGIORGIO et al., 2008). Não houve diferença quando comparado o número de animais do grupo G2 VC e do grupo G3 VC, o que discorda de Maiorano et al. (2005) que observaram ação anti-edema do extrato vegetal.

O número de animais do grupo G2 VC que apresentou regeneração de fibra foi maior do que o grupo G3 VC, o que pode estar relacionado à menor ação da PLA2 sobre os animais deste grupo, concordando assim com Maiorano et al. (2005) que obsevaram a ação anti-PLA2 do extrato de Mikania glomerata, pois um menor número de animais desse grupo apresentou degeneração e necrose quando comparado com os do grupo G2 VC.

6.6.2 ALTERAÇÕES RENAIS

Uma das principais ações do veneno crotálico é a nefrotoxicidade (FERREIRA JUNIOR & BARRAVIERA, 2004; BRASIL, 2005). O veneno crotálico pode ter ação direta ou indireta por meio da deposição de mioglobina nos túbulos renais (TOKARNIA, 2006). A degeneração hidrópica ocorreu nos dois grupos (G2 VC e G3 VC) variando de intensidade discreta e moderada nos animais do G3 VC e moderada a acentuada no grupo G2VC. Motta et al. (2007) e Sangiorgio et al. (2008) observaram degeneração hidrópica após a inoculação experimental do veneno crotálico. No grupo G3 VC, apenas um animal apresentou degeneração hidrópica renal, o que pode estar relacionado com a ação do extrato de Mikania glomerata em neutralizar os efeitos da PLA2 do veneno crotálico (MAIORANO et al., 2005).

A necrose tubular aguda é citada por alguns autores como uma das conseqüências direta ou indireta do veneno crotálico (MONTEIRO et al., 2001;

MARTINS et al., 2002). Foi observado, neste estudo, que tanto no grupo G2 VC e quanto no grupo G3 VC, alguns animais apresentaram necrose tubular aguda, concordando com os achado de Motta et al. (2007) que observaram, em seu estudo com veneno crotálico inoculado experimentalmente em ratos Wistar, necrose tubular em 100% dos animais inoculados. Sangiorgio et al. (2008) também observaram necrose tubular em cães intoxicados experimentalmente com o veneno de Crotalus durissus terrificus.

Nos dois grupos onde foi inoculado o veneno crotálico, os animais apresentaram congestão de grau discreto e moderado, sendo que no grupo G2 VC, maior número de animais apresentou congestão discreta e no G3 VC maior numero de animais apresentou congestão moderada. A congestão também foi observada por alguns autores e está relacionada ao processo tóxico do veneno crotálico (MOTTA et al., 2007; SANGIOGIO et al., 2008).

Não houve lesões hemorrágicas em grau moderado ou grave nos animais de todos os grupos e momentos. No entanto, no grupo G2 VC, onde o tratamento foi apenas a administração do soro antiofídico, 4 animais apresentaram lesões hemorrágicas discretas, mas no grupo G3 VC, onde os animais receberam o tratamento complementar com o extrato vegetal, não houve alterações hemorrágicas, o que vem de acordo com Maiorano et al., (2005) que observaram uma total neutralização da ação coagulante do veneno da serpente Crotalus durissus terrificus com o uso do referido extrato.

Conclusões

7. CONCLUSÕES

De acordo com as circunstâncias metodológicas em que o experimento foi delineado, os resultados obtidos neste trabalho permitiram chegar às seguintes conclusões:

1- O veneno da serpente Bothrops jararaca causa hipotermia; é neurotóxico; não altera as freqüências cardíaca e respiratória, apresenta nefrotoxicidade;
2- O efeito edematogênico do veneno botrópico é local e grave e não tem efeito sistêmico;
3- O veneno botrópico causa incoagulabilidade no rato Wistar, porém sugere maior resistência deste ao parâmetro estudado;
4- O extrato aquoso de Mikania glomerata não tem ação anti-edema, não protege contra a nefrotoxicidade nem a miototoxicidade do veneno botrópico quando avaliado por exames laboratoriais, não atua no eritrograma nem no leucograma;
5- Ação do veneno botrópico sobre a creatinoquinase (CK) é transitória com volta à normalidade desta em 24 horas;
6- O veneno botrópico causa um leucograma de estresse (leucocitose com neutrofilia e linfopenia);
7- O veneno botrópico provoca lesões musculaturas esqueléticas como: degeneração, necrose de coagulação, edema, congestão e hemorragia; renais como: degeneração hidrópica, necrose tubular aguda, congestão e hemorragias, que reforçam a nefrotoxicidade do mesmo;
8- O extrato de Mikania glomerata tem boa ação protetora, em relação a lesões na musculatura esquelética, na redução da gravidade das lesões como edema e congestão e na prevenção de hemorragias, mas não protege contra lesões renais quando avaliado por histopatologico;

9- A inoculação do veneno crotálico provoca hipotermia, neurotoxicidade tais como: sedação e alteração de locomoção e o grupo que recebeu o extrato

de Mikania glomerata teve um grau de sedação menor 24 horas após a inoculação do veneno;

10- O efeito edematogênico do veneno crotálico é local e sistêmico e a Mikania glomerata tem efeito anti-edema;

11- O veneno crotálico não provoca incoagulabilidade no rato Wistar caracterizando a maior resistência deste para este parâmetro;

12- O veneno crotálico é nefrotóxico e a Mikania glomerata tem ação protetora sobre a nefrotoxicidade do veneno,

13- O veneno crotálico tem miotoxicidade (aumento de CK) transitória e a Mikania glomerata não tem efeito anti-miotoxicidade quando avaliado por meio de exames laboratoriais,

14- O veneno crotálico não tem efeito sobre o eritrograma mas causa leucograma de estresse e o extrato de Mikania glomerata não tem efeito protetor,

15- O veneno crotálico tem ação miotóxica sobre musculatura esquelética (degeneração, necrose de coagulação e edema), provoca regeneração de fibra muscular; e causa nefrotoxicidade (degeneração hidrópica, necrose tubular, congestão e hemorragia),

16- O extrato aquoso de Mikania glomerata tem ação protetora em relação a miotoxicidade mas não tem boa eficiência contra a nefrotoxicidade em relação a lesões histopatológicas.

Referências Bibliográficas

8. REFERÊNCIAS*

AGOSTINI UTESCHER, C.L.; VIEIRA, S.L.P.; FENSTERSEIFER, S.; RIBEIRO, L.A.; JORGE, M.T. Avaliação da eficácia do antiveneno botrópico administrado no local da inoculação intramuscular do veneno de Bothrops jararaca: Estudo experimental em camundongos. Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo, v. 36, p.275–278, 1994.

AMARAL, C.F.S.; MAGALHÃES, R.A.; REZENDE N.A. Afibrinogenemia following snake bite (Crotalus durissus terrificus). Am. J. Trop. Med. Hyg., v.29, p.1453-1455, 1980.

AMARAL, C.F.S.; REZENDE, N.A.; SILVA, O.A.; RIBEIRO, M.M.F.; MAGALHÄES, R.A.; REIS, R.J.; CARNEIRO, J.G.; CASTRO, J.R.S. Insuficiência renal aguda secundária a acidentes ofídicos botrópico e crotálico. Análise de 63 casos. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, v. 28, p. 220-227,1986.

AMARAL, C.F.S.; MAGALHÃES, R.A.; REZENDE N.A. Afibrinogenemia secundária a acidente ofídico crotálico (Crotalus durissus terrificus). Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, v. 30, p. 288-292,1988.

AMARAL, C.F.S.; MAGALHÃES, R.A.; REZENDE, N.A. Comprometimento respiratório secundário a acidente ofídico crotálico. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, v. 33, p. 251-255,1991.

*ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação – Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.
NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. List of journals indexed in Index Medicus. Washington, 1997. 240p.

AMARAL, C.F.S.; CMPOLINA, D.; DIAS, M.B.; BUENO, C.M.; REZENDE, N.A. Tourniquet ineffectiveness to reduce the severity of envenoming after Crotalus durissus snake bite in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Toxicon, v.36, p.805-808, 1998.

AMORIM, M.F.; MELLO, R.F.; SALIBA, F. Envenenamento botrópico e crotálico. Mem. Inst. Butantan (São Paulo), v.23, p.63-108, 1951.

AMORIM, M.F.; MELLO, R.F. Nefrose do nefron intermediário no envenenamento crotálico humano. Estudo anátomo-patológico. Mem. Inst. Butantan (São Paulo), v.24, p.281-316, 1952.

AMORIM, M.F.; MELLO, R.F.; SALIBA, F. Lesões renais induzidas experimentalmente no cão pelo veneno crotálico. Mem. Inst. Butantan (São Paulo), v.34, p. 137-157, 1969.

ARAÚJO, P.; BELLUOMINI, H.E. Toxicidade de venenos ofídicos. I. Sensibilidade específica de animais domésticos e de laboratório. Mem. Inst. Butantan (São Paulo), v.30, p.143-156, 1960-1962.

ARMANI, A.L.C. Atlas de patologia geral, Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2007, 32p. Disponível em: <www2.uel.br/ccb/patologia/atlas/atlas-de-patologia.pdf> Acesso em: 16 abr. 2008.

AZEVEDO, A.P.; TEIXEIRA, J.C. Intoxicação por veneno de cobra: necrose simétrica da córtex renal. Uremia. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v.33, p. 23-37, 1938.

AZEVEDO-MARQUES, M.M.; CUPO, P.; COIMBRA, T.M.; HERING, S.E.; ROSSI, M.A.; OLIVEIRA, J.A. Mionecrose e insuficiência renal aguda mioglobinúrica após acidente crotálico. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 18, Ribeirão Preto, 1982. Anais... Ribeirão Preto, 1982. p.12.

AZEVEDO MARQUES, M.M.; CUPO, P.; COIMBRA, T.M.; HERING, S.E.; ROSSI, M.A.; LAURE, C.J. Myonecrosis, myoglobinuria and acute renal failure induced by South American rattlesnake (Crotalus durissus terrificus) envenomation in Brazil. Toxicon, v.23, p.631-636, 1985.

AZEVEDO-MARQUES, M.M.; CUPO, P.; HERING, S.E. Acidentes por animais peçonhentos: serpentes peçonhentas. Medicina, v.36, p.480-489, 2003.

BÁEZ, A.; TEIBLER, P.; BURNA, A.; ACOSTA-BADARÓ, M.; SOLANA, M.; INFULSKI, R.; ACOSTA DE PÉREZ, O. Lesiones sistémicas en un canino por intoxicación ofídica. Rev. Vet., v.16, n.2, p.95-98, 2005.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. Experimentação agrícola. 4 ed. Jaboticabal: Funep, 2006. 237p.

BARRAVIERA, B.; BONJORNO JÚNIOR, J.C.; ARKAKI, D.; DOMINGUES, M.A.; PEREIRA, P.C.; MENDES, R.P.; MACHADO, J.M.; MEIRA, D.A. A retrospective study of 40 victims of Crotalus snake bites. Analysis of the hepatic necrosis observed in one patient. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., v.22, p. 5-12, 1989.

BARRAVIERA, B. Acidentes por serpentes do gênero Crotalus. Arq. Bras. Med., v.64, p.14-20, 1990.

BARRAVIERA, B. Alterações hepáticas no acidente crotálico. Rev. Soc. Med. Trop., v.24, supl. 2, p. 75-81, 1991.

BARRAVIERA, B. Alterações hepáticas no envenenamento ofídico. 1993. 154f. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

BARRAVIERA, B. Acidentes por serpentes dos gêneros “Crotalus” e “Micrurus” In: __. Venenos animais: uma visão integrada. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1994a. p.281-295.

BARRAVIERA, B.; PERAÇOLI, M.T.S. Soroterapia heteróloga. In: ___. Venenos Animais: uma visão integrada. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1994b. p.361-372.

BARRAVIERA, B.; COELHO, K.Y.R; CURI, P.R.; MEIRA, D.A. Liver disfunction in patients bitten by Crotalus durissus terrificus (Laurent, 1768) Snakes in Botucatu (State of São Paulo, Brazil). Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, v.37, p.63-69, 1995.

BARRIO, A. Gyroxin, a new neurotoxin of Crotalus durissus terrificus venom. Acta Physiol. Lat. Am., v.11, p.224, 1961.

BELLAIRS, A.D.A.; UNDERWOOD, G. The origin of snakes. Biol. Rev., v.26, p.193-237, 1951.

BELLUOMINI, H.E.; ARAUJO, P.; ROSENFELD, G.; PENHA, A.M. Serum Therapy of cattle experimentally poisoned with rattlesnake venom, Mem. Inst. Butantan (São Paulo), v.30, p.93-95, 1983.

BELLUOMINI, H.E. Conhecimentos sobre as serpentes brasileiras e medidas de prevenção de acidentes. Rev. Bras. Saúde Ocup., v.12, p.82-96, 1984.

BICUDO, P.L. Acidentes ofídicos em Medicina Veterinária. In: BARRAVIERA, B. Venenos animais: uma visão integrada. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, p.375-387, 1994.

BOCHNER, R.; STRUCHINER, C.J. Epidemiologia dos acidentes ofídicos nos últimos 100 anos no Brasil: uma revisão. Cad. de Saúde Publica, v. 19, n.1, p. 7-16, 2003.

BOECHAT, A.L.R.; PAIVA, C.S.; FRANÇA, F.S.; DOS-SANTOS, M.C. Heparin-antivenom association: differential neutralization effectiveness in Bothrops atrox and Bothrops erythromelas envenoming. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, v.43, n.1 p.7-14, 2001.

BOER-LIMA, P.A.; GONTIJO, J.R.; CRUZ-HÖFLING, M.A. Histologic and functional renal alterations caused by Bothrops moojeni snake venom in rats. Am. J. Trop. Med. Hyg., v. 61, n.5, p. 698-706, 1999.

BON, C.; CHANGEUX, J.; JENG, T.; FRAENKEL-CONRAT, H. Postsynaptic effects of crotoxin and of its isolated subunits. Eur. J. Biochem., v.99, n.3, p 471-81, 1979.

BORGES, C.C.; SADAHIRO, M.; SANTOS, M.C. Aspectos epidemiológicos e clínicos dos acidentes ofídicos ocorridos nos municípios do Estado do Amazonas. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., v..32(6), p. 637-646, nov-dez, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Ações Básicas de Saúde. Grupo de Trabalho para Estabelecer Normas e Diretrizes para o Tratamento de Acidentes com Animais Ofidicos. Manual de diagnostico e tratamento de acidentes ofidicos. Brasília, 1987. 53p. (Serie A: Normas e Manuais Técnicos, 35).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Ações Básicas de Saúde. Acidentes ofídicos. Brasilia,1990. 2p. (Contribuição ao Estudo da Morbidade, 47/48).

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Manual de diagnósticos e tratamento de acidentes por animais peçonhentos. Brasília, 1998. 131p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Manual de diagnósticos e tratamento de acidentes por animais peçonhentos. 2ed. Brasília, 2001. 131p.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de Vigilância Epidemiológica. 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2005. 816p.

BUCARETCHI, F.; HERRERA, S.R.F.; HYSLOP, S.; BARACAT, E.C.E.; VIEIRA, R.J. Snakebites by Crotalus durissus ssp in children in Campinas, São Paulo, brazil. Rev. inst. Med. Trop. São. Paulo, v.44, n.3, p. 133-138, 2002.

BURDMANN, E.A.; WORONIK, V.; PRADO, E.B.A.; ABDULKADER, R.C.; SALDANHA, L.B.; BARRETO, O.C.O.; MARCONDES, M. Snake-bite induced acute renal failure: an experimental model. Am. Soc. Trop. Med. Hyg., v.48, n.1, p.82-8, 1993.

CALIL-ELIAS, S.; THATTASSERY, E.; MARTINEZ, A.M.B.; 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. v.35, n.10, p.1233-1235, 2002.

CARDOSO, J.L.C.; BRANDO, R.B. Acidentes por animais peçonhentos: clínica e tratamento. São Paulo: Livraria Santos, 1982. 243p.

CARDOSO, J.L. Ofidismo. Aracneísmo. Escorpionismo. Epidemiologia. Patogenia e Clínica. Diagnóstico e Terapêutica. In: SOERESEN, B. Animais peçonhentos. São Paulo: Atheneu, 1990. p.109-138.

CASTRO, I. Estudo da toxicidade das peçonhas crotálicas e botrópicas, no acidente ofídico, com ênfase a toxicidade renal. O Mundo da Saúde, v. 30, n.4, p. 644-653, 2006.

CHANG, C.C.; TSENG, K.H. Effects of crotamine, a toxin of South American rattlesnake venom on the sodium channel of murine skeletal muscle. Br. J. Pharmacol., v.63, p.551-559, 1978.

CHÁVEZ-OLORTEGUI, C.; LOPES, C.S.; CORDEIRO, F.D.; GRANIER, C.; DINIZ, C.R. An enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) that discriminates between Bothrops atrox and Lachesis muta muta venoms. Toxicon, v.31, p.417-425, 1993.

CLISSA, P.B. Caracterização do efeito da jararagina sobre a produção e liberação de citocinas pró-inflamatorias em modelo murino. 2002. 110f. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

COLLICCHIO, R.C.; SAKATE, M.; BALARIN, M.R.S.; HAKATA, A.; KLEIN, R.P.; VIANA, L.; NOGUEIRA, F.S. Relato de caso: Alterações clínicas e laboratoriais conseqüentes à picada de cascavel (Crotalus durissus terrificus) em uma cadela gestante. Clín. Vet., n.40, p.45-48, 2002.

COLLINS, T. Acute and chronic inflammation. In: COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Robbins pathologic basis of disease. 6.ed. Philadelphia: Saunders, 1999. p.50-87.

CONCEIÇÃO, L.G.; ARGOLO NETO, N.M.; CASTRO, A.P.; FARIA, L.B.A.; FONTERRADA, C.O. Anaphylatic reaction after Crotalus envenomation treatment in a dog: case report. J. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis., v.13, n.2, 2007.

CORRÊA, M.P. Dicionário de Plantas Úteis do Brasil, Brasília: Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. Brasilia, DF, v.5, 687p.

CUPO, P.; AZEVEDO-MARQUES, M.M.; HERING, S.E. Acidente crotálico na infância: aspectos clínicos, laboratoriais, epidemiológicos e abordagem terapêutica. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., v.24, n.2, p.87-96, 1991a.

CUPO, P.; AZEVEDO-MARQUES, M.M.; MENEZES, J.B.; HERING, S.E. Reações de hipersensibilidade imediatas após uso intravenoso de soros antivenenos: valor prognóstico dos testes de sensibilidade intradérmicos. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, v.33, p.115-122, 1991b.

DAL PAI, V.; NETO, H.S. Ação dos venenos sobre os tecidos animais. In: BARRAVIERA, B. Venenos animais: uma visão integrada. São Paulo: Publicações Científicas, 1994. p.97-105.

DEMPSTER, D.W.; GOPALAKRISHNAKONE, P.; HAWGOOD, B.J. Intramitochondrial calcium deposits associated with muscle necrosis induced by crotoxin. J. Physiol., v.300, p.21, 1980.

FARSKY, S.H.; GONÇALVES, L.R.; CURY, Y. Characterization of local tissue damage evoked by Bothrops jararaca venom in the rat connective tissue microcirculation: an intravital microscopic study. Toxicon, v.37, n.7 p.1079-1083, 1999.

FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. Schalm's veterinary hematology. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344p.

FERREIRA JUNIOR, R.S.; BARRAVIERA, B. Management of venomous snakebites in dogs and cats in Brazil. J. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis., v.10, n.2, p.112-132, 2004.

FIERRO, I.O.; SILVA, A.C.; LOPES, C.S.; SOARES DE MOURA, R.; BARJA-FIDALGO, C. Studies on the anti-allergic activity of Mikania glomerata. J. Ethnopharmacol., v.66, n.1, p.19-24, 1999.

FRANCISCHETTI, I.M.B.; SALIOU, B.; LEDUC, M.; CARLINI, C.R.; HATMI, M.; RANDON, J.; FAILI, A.; BOM, C. Convulxin, a potent platelet-aggregating protein from Crotalus durissus terrificus venom, specifically binds to platelets. Toxicon, v.35, n.8, p.1217-1228, 1997.

GOMES, R.T.; CAMARGOS, R.P.; VIOTTI, A.P.; REVELO, M.P.; FREITAS, T.V. Comparison of the biodistribution of free or liposome-entrapped Crotalus durissus terrificus (South American Rattlesnake) venom in mice. Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol., v.131, n.3, p.295-301, 2002.

GOPALAKRISHNAKONE, P.; DEMPSTER, D.W.; HAWGOOD, R.J.; ELDER, H.Y. Cellular and mitochondrial changes induced in the structure of murine skeletal muscle by crotoxin, a neurotoxic phospholipase A_2 complex. Toxicon, v.22, p.85-98, 1984.

GUTIÉRREZ, J.M.; RUCAVADO, A. Snake venom metalloproteinases: their role in the pathogenesis of local tissue damage. Biochimie, v. 82, p. 841-50, 2000.

HACKETT, T.B.; WINGFIELD, W.E.; MAZZAFERRO, E.M.; BENEDETTI, J.S. Clinical findings associated with prairie rattlesnake bites in dogs: 100 cases (1989–1998). J. Am. Vet. Med. Assoc., v. 220, p. 1675-1680, 2002.

HARRIS, J.B. Myotoxic phospholipase A2 and the regeneration of skeletal muscules. Toxicon, v.43, p.933-945, 2003.

HAWGOOD, B.J. Doctor Albert Calmette 1963-1933: founder of antivenomous serotherapy and of antituberculous BCG vaccination. Toxicon, v.37, p1241-1258, 1999.

HOLETZ, F.B.; PESSINI, G.L.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P. Screening of some plants used in the brazilian folks medicine for the treatment of infectious diseases. Men. Inst. Oswaldo. Cruz, v. 97, n.7, p.1027-1031, 2002.

HUDELSON, S.; HUDELSON, P. Pathophysiology of snake envenomization and evaluation of treatments-Part II. Comp. Contin. Educ. Pract. Vet., v.17, p.1035-1040, 1995.

JAIN, N.C. Schalm´s veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. p.1221.

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

JIM, J.; SAKATE, M. Biologia das serpentes. In: BARRAVIERA, B. (Coord.). Venenos animais: uma visão integrada. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1994. p.109-134.

JORGE, M.T.; RIBEIRO, L.A. Incoagulabilidade sangüínea no acidente crotálico. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., v.21, supl., p.121, 1988.

JORGE, M.T.; RIBEIRO, L.A. Acidentes por animais peçonhentos. In: AMATO NETO, V.; BALDY, J.L.S. Doenças transmissíveis. São Paulo: Sarvier, 1989. p.133-141.

JORGE, M.T.; RIBEIRO, L.A. Acidentes por serpentes peçonhentas do Brasil. Rev. Assoc. Méd. Bras., v.36, p.66-77, 1990.

JORGE, M.T.; RIBEIRO, L.A. Epidemiologia e quadro clinico do acidente por cascavel sul-americana (Crotalus durissus). Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, v.34, n.4, p.347-354, 1992.

JORGE, M.T.; RIBEIRO, L.A. Dose de soro (antiveneno) no tratamento do envenenamento por serpentes peçonhentas do gênero Bothrops Rev. Assoc. Med. Bras., v.43, n.1, p.74-76, 1997.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Clinical biochemistry of domestic animals. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932p.

KELEN, E.M.A.; ROSENFELD, G.; NUDEL, F. Hemolytic activity of animal venoms. II. Variation in relation to erythrocyte species. Mem. Inst. Butantan (São Paulo), v.30, p.133-142, 1960-1962.

KINI, R.M.; EVANS, H.J. A model to explain the pharmacological effects of snake venom phospholipases A_2. Toxicon, v.27, p.613-635, 1989.

KOSCINCZUK, P.O.; ACOSTA DE PÉREZ, O.; TEIBLER. P.; MARUÑAK, S.; ROSCIANI, A.S. American rattlesnake (Crotalus durissus terrificus) bite accidents in dogs in Argentina. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.52, p.125-129, 2000.

KOSCINCZUK P.; ORTEGA, H.; DAILLARD, B.; MUSSART, N.B. Valoración bioquímica, histopatológica e inmunohistoquímica del daño renal causado por veneno de Bothrops neuwiedii en ratas. Rev. Vet. v. 18, n.1, p. 14–19, 2007.

KRIZAJ, I.; BDOLAH, A.; GUBENSEK, F.; BENCINA, P.; PUNGERCAR, J. Protein and cDNA structures of an acidic phospholipase A_2, the enzymatic part of an unusual, two component toxin from Vipera palaestinae. Biochem. Biophys. Res. Commun., v.4227, n.2, p.274-279, 1996.

.

LAGO, L.A.; FERREIRA, P.M.; FACURY FILHO, E.J.; MELO, M.M.; ALZAMORA FILHO, F. Quadro clínico do envenenamento crotálico experimental em bovinos (Crotalus durissus terrificus-crotamina positivo). Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., v.37, n.4, p.312-315, 2000.

LAGO, F.A.; MARQUES JUNIOR, A.P.; MELO, M.M.; OLIVEIRA, N.J.F., ALZAMORA FILHO, F. Perfil bioquímico sorológico de bovinos inoculados experimentalmente com veneno crotálico iodado livre e iodado incorporado em lipossomas. Arq. Brs. Méd. Vet. Zootec. v.55, n.5, p.653-657, 2004.

LOPEZ, M.; FOSCARINI, L.G.; ALVARES, J.M.; DINIZ-FILHO, I.; MARRA, U.D.; PROCÓPIO, N.P.M.M. Tratamento intensivo das complicações do acidente ofídico. Rev. Assoc. Méd., v.23, p.107-112, 1972.

MAIORANO, V.A.; MARCUSSI, S.; DAHER, M.A.F.; OLIVEIRA, C.Z.; COUTO, L.B.; GOMESD, O.A.; FRANÇA, S.C.; SOARES, A.M.; PEREIRA, P.S. Antiophidian properties of the aqueous extract of Mikania glomerata. J. Ethnopharmacol., v.102, p.364–370, 2005.

MANCIN, A.C.; SOARES, A.M.; ANDRIÃO-ESCARSO, S.H.; FAÇA, V.M.; GREENE, L.J.; ZUCCOLOTTO, S.; PELÁ, I.R.; GIGLIO, J.R. The analgesic activity of crotamine a neurotoxin from Crotalus durissus terrificus (South American rattlesnake) venom: a biochemical and pharmacological study. Toxicon, v.36, n.12, p.1927-1937, 1998.

MAGALHÃES, R.A.; RIBEIRO, M.M.F.; REZENDE, N.A.D.; AMARAL, C.F.S. Rabdomiólise secundaria a acidente crotálico (Crotalus durissus terrificus). Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, v.28, p.228-233, 1986.

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

MARTINS, A.M.; TOYAMA, M.H.; HAVT, A.; NOVELLO, J.C.; MARANGONI, S.; FONTELES, M.C.; MONTEIRO, H. Determination of Crotslus durissus cascavella venom components that induced renal toxicity in isolated rat kidneys. Toxicon, v.40, n.8, p.1165-1171, 2002.

MARUÑAK, S.L.; RUIZ DE TORRENT, R.M.; TEIBLER, G.P.; GAY, C.C.; LEIVA, L.; ACOSTA DE PÉREZ, O. Acción del veneno de Bothrops jararacussu de argentina sobre la coagulación sanguínea. InVet. (B. Aires), v.8, n.1, p.119-128, 2006.

MATSUI, T.; FUGIMURA, Y.; TITANI, K. Snake venom proteases affecting hemostasis and thrombosis. Biochim. Biophys. Acta, v. 1477, p. 146-156, 2000.

MEIER, J.; WHITE, J. Handbook of clinical toxicology of animal venoms and poisons. Boca Raton: CRC, 1995. 752p.

MELO, P.A.; SUAREZ-KURTZ, G. Interaction of Bothrops venoms and antivenin on the release of creatine kinase from skeletal muscle. Braz. J. Med. Biol. Res., v.20, n.6, p.821-824, 1987.

MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. Anormalidades em testes do Trato Urinário. In:_____ Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico. São Paulo: Roca, 1995. p.63-68.

MILANI, R.; JORGE, M.T.; FERRAZ DE CAMPOS, F.P.; MARTINS, F.P.; BOUSSO, A.; CARDOSO, J.L.C.; RIBEIRO, L.A.; FAN, H.W.; FRANÇA, F.O.S.; MONTEIRO, H.S.; SILVA, I.M.; FONTELES, M.C. Actions of Crotalus durissus terrificus venom and crotoxin of the isolated rat kidney. Braz. J. Med. Biol. Res., v.34, n.10, p.1347-1352, 1997.

MONTEIRO, H.S.A.; SILVA, I.M.S.C.; MARTINS, A.M.C.; FONTALES, M.C. Actions of Crotalus durissus terrificus venom and crotoxin on the isolated rat kidney. Braz. J. Med. Biol. Res., v.34, n. 10, p.1347-1352, 2001.

MOSQUEIRA, A.; IDROVO, L.A.; TAFUR, A.; DEL BRUTTO, O.H. Stroke following Bothrops spp. snake-bites. Neurology, v. 60, p.1577–80, 2003.

MOURA-GONCALVES, J.; VIEIRA, A. Estudo sobre o veneno de serpentes brasileiras. I. Análise eletroforética. An. Acad. Bras. Cienc., v.22, p.141-150, 1950.

MOTTA, Y.P.; SAKATE, M.; NOGUEIRA, R.M.B.; SANCHES, O.C.; SANGIORGIO, F.; FUKUI, R.; DAVID, H. Avaliação histopatólogicas do rim e da musculatura em ratos wistar intoxcados experimentalmente com venenos botrópico e crotálico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE TOXICOLOGIA, 15., 2007, Búzios. Rev. Bras. Toxicol., v.20. p.87, 2007.

MURTAUGH, R.J.; KAPLAN, P.M. Veterinary emergency and critical care medicine. 1 ed. St. Loius (USA): Mosby-Year Book, 1992. 685 p.

NAHAS, L.; DENSON, K.W.E.; MAcFARLANE, R.G. A study of the coagulant action of eight snake venoms. Thromb. Diath. Haemorrh., v.12, p.355, 1964.

NEVES, L.J.; SÁ, M.F.A. Contribuição ao estudo das plantas medicinais Mikania glomerata Spreng. Rev. Bras. Farm., v.71, n.2, p.42-47, 1991.

NISHIOKA, S.A.; JORGE, M.T.; SILVEIRA; P.V.P.; RIBEIRO, L.A. South American rattlesnake bite and soft-tissue infection: report of a case. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., v.33, n.4, p.401-402, 2000.

NOBLE, G.K.; SCHMIDT, A. The structure function on the facial and labial pits of snakes. Proc. Am. Philos. Soc., v.77, p.263-288, 1937.

NOGUEIRA, R.M.B. Aspectos clínico, hematológico, bioquímico e urinálise de cães intoxicados com veneno de Crotalus durissus terrificus família Crotalidae e tratados com soro antiofídico. 2001. 162f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

NOGUEIRA, R.M.B., SAKATE, M. Clinical and hematological alterations in dogs during experimental envenomation with Crotalus durissus terrificus venom and treated with antiophidic serum. J. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis., v. 12, n.2, p. 285–296, 2006.

NOGUEIRA, R.M.B.; SAKATE, M.; SANGIORGIO, F.; LAPOSY, C.B.; MELERO, M. Experimental envenomation with Crotalus durissus terrificus venom in dogs treated with antiophidic serum-Part I: clinical evaluation, hematology and myelogram. J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis., v.13, n.4, p.800-810, 2007a.

NOGUEIRA, R.M.B.; SAKATE, M.; SANGIORGIO, F.; LAPOSY, C.B.; TOSTES, R.A. Experimental envenomation with Crotalus durissus terrificus venom in dogs treated with antiophidic serum-Part II: laboratory aspects, electrocardiogram and histopathology. J. venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis., v.13, n.4 p.811-810, 2007b.

OGUIURA, N.; BONI-MITAKEB, M.; RÁDIS-BAPTISTA, G. New view on crotamine, a small basic polypeptide myotoxin from South American rattlesnake venom. Toxicon, v.46, p.363-370, 2005.

OKAMOTO, M.; VISKATIS, L.J.; DE LA ROZA, G.; VIDAL, J.C. Induction of tolerance to crotoxin in mice. J. Pharmacol. Exp. Ther., v. 265, p. 41-46, 1983.

OLIVEIRA, F.; ALVARENGA, M.A.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. Isolamento e identificação de componentes químicos de Mikania glomerata Sprengel e de Mikania laevigata Schutz Bip. ex Baker. Rev. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo, v.20, n.2, p.169-183, 1984.

OLIVEIRA, R.B.; RIBEIRO, L.A.; JORGE, A.T. Fatores associados à incoagulabilidade sanguinea no envenenamento por serpentes do gênero Bothrops. Rev. Soc. Bras. Méd. Trop., v.36, n.6, p.657-663, 2003.

OLIVEIRA, N.J.F.; MELO, M.M.; RIBEIRO,E.L.; LAGO, L.A.; LUCIA, M. Achados histopatológicos em bovinos experimentalmente envenenados com veneno de Bothrops alternatus. In: CONBRAVET, 31., São Luiz, Resumo. São Luiz, 2004.

PEREIRA, N.A.; PEREIRA, B.M.R.; NASCIMENTO, M.C.; PARENTE, J.P.; MORS, W.B. Pharmacological screening of plants recommended by folk medicine as anti-snake venom. IV. Proction against jararaca venom by isolated constituints. Planta Med., v.60, p.99-100, 1994.

PEREZ, O.A.; KOSCINCZUK, P.; TEIBLER, P.; RUIZ, R.; NEGRETTE, M.S.; MARUÑAK, S.; COPPO, N.M. Intoxicación por veneno de crotalus durissus terrificus (cascavel) en ratas. Acta Toxicol. Argent., v.5, n.2, p.71-74, 1997a.

PEREZ, O.A.; MARUÑAK, S.; RUIZ, R.; KOSCINCZUK, P.; TEIBLER, P. Hemorrhage induced by snake venoms in Argentina. Acta Physiol. Pharmacol. Ther. Lat. Am., v.47, n.4, p.221-224, 1997b.

PEREZ, O.A.; KOSCINCZUK, P.; TEIBLER, P.; NEGRETTE, M.S.; MARUÑAK, S.; BOGARÍN, G. Actividades hemorrágica y edematizante y alteraciones histológicas em almohadilla plantar Del ratón inducidas por venenos de sepientes de los gêneros Bothrops y Crotalus e Argentina. Toxicon, v.36, n.8, p.1165-1172, 1998.

PETERSON, M.E. Snake bite: North American Pit Vipers In: PETERSON, M.E.; TALCOTT, P.A. Small animal toxicology, 2.ed. st. Louis: Saunders/Elsevier, 2006. p.1017-1038.

PINHO, F.O.; VIDAL, E.C.; BURDMANN, E.A. Atualizações em insuficiência renal aguda: insuficiência renal aguda após acidente crotálico. J. Bras. Nefrol., v. 22, n.3, p.162-168, 2000.

PINHO, F.M.O.; PEREIRA, I.D. Ofidismo. Rev. Assoc. Méd. Bras., v.47, n.1, p.2-13, 2001.

PRADO-FRANCESCHI, J.; VITAL BRAZIL, O. Convulxin, a new toxin from the venom of the South American rattlesnake Crotalus durissus terrificus. Toxicon, v.19, p.875, 1981.

PUIG, J.; VILAFRANCA. M.; FONT, A.; CLOSA, J.; PUMAROLA, M.; MASCORT, J. Acute intrinsic renal failure and blood coagulation disorders after a snakebite in a dog. J. Small Anim. Pract., v.36, p. 333-336, 1995.

RAISER, A.G. Choque. In: ANDRADE, S.F. Manual de terapêutica veterinária. 2.ed. São Paulo: Roca. 2002. p.504-521.

RAW, I.; ROCGA, M.C.; ESTEVES, M.I. Isolation and characterization of a thrombin-like enzyme from the venom of Crotalus durissus terrificus. Braz. J. Med. Biol. Res., v.19, n.3, p.333-338, 1986.

RIBEIRO, L.A.; AGOSTINI UTESCHER, C.L.; VIERA, S.L.P.; FENSTERSEIFER, S.; MUKUNO, H.; JORGE, M.T. Avaliação em camundongos da eficácia do antiveneno administrado no local da inoculação intramuscular do veneno de Crotalus durissus terrificus. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, v.35, p.23-27,1993.

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

RIBEIRO, L.A.; ALBUQUERQUE, M.J.; PIRES DE CAMPOS, V.A.F.; KATZ, G.; TAKAOKA, N.Y.; LEBRÃO, M.L.; JORGE, M.T. Óbitos por serpentes peçonhentas no Estado de São Paulo: avaliação de 43 casos, 1988/93. Rev. Assoc. Med. Bras., v.44, n.4, p.312-318, 1998.

ROODT, A.R.; DOLAB, J.A.; SEGRE, L. Fisiopatologia y diagnóstico del ataque por serpientes venenosas. Una breve actualización. Rev. Med. Vet., v.77, p.64-71, 1996.

ROSENFELD, G.; KELEN, E.M.A.; NUDEL, F. Hemolytic activity of animal venoms. I. Classification in different types and activities. Mem. Inst. Butantan (São Paulo), v.30, p.103-116, 1960-1962.

ROSENFELD, G. Symptomatology, pathology and treatments os snake bites in South America. In: BUCHERL, W.; BUCKLEY, E.E. Venomous animals and their venoms. New York: Academic Press, 1971. p.345-384.

ROSSI, M.A.; PERES, L.C.; PAOLA, F.; CUPO, P.; HERING, S.E.; AZEVEDO-MARQUES, M.M. Electron-microscopic study of systemic myonecrosis due to poisoning by tropical rattlesnake (Crotalus durissus terrificus) in humans. Arch. Pathol. Lab. Med., v. 113, p.169-173, 1989.

ROVERE, A.A.; RAYNALD, A.C.; BERMAN, J.M.; SAN ROMÁN, A.; GARCÍA, C.A. Early effect of Crotalus durissus terrificus venom on kidney circulation. Acta Physiol Lat. Am., v.28, n.2-3, p.133-1399, 1978.

RUCAVADO, A.; LOMONTE, B.; OVADIA, M.; GUTIÉRREZ, J.M.; Local tissue damage induced by BaP1, a metalloproteinase isolated from Bothrops asper (Terciopelo) snake venom. Exp. Mol. Pathol., v.63, p.186-199, 1995.

SAKATE, M. Terapêutica das intoxicações. In: ANDRADE, S.F. Manual de terapêutica veterinária. São Paulo: Roca, 2002.p.523-555.

SALIBA, A.M.; BELLUOMINI, H.E.; LEINZ, F.F. Pathology of experimental poisoning of cattle with Crotalus snake venom. Dtsch. Tierarztl. Wochenscher., v.3, p. 513-517, 1983.

SALVINI, T.F.; AMARAL, A.C.; MIYABARA, E.H.; TURRI, J.A.O.; DANELLA, P.M.; SELISTRE DE ARAÚJO, H.S. Systemic skeletal muscle necrosis induced by crotoxin. Toxicon, v. 39, p. 1141-1149, 2001.

SANGIORGIO, F.; SAKATE, M.; NOGUEIRA, R.M.B.; TOSTES, R.A. Histopathology evaluation in experimental envenomation of dogs with Crotalus durissus terrificus venom. J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis., v.14, n.1 p.82-99, 2008.

SANO-MARTINS, I.S.; SANTORO, M.L.; MORENA, P.; SOUSA-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. Méd. Biol. Res., v.28, p.303-312, 1995.

SANO-MARTINS, I.S.; CARDOSO, D.; FERNANDEZ, I.C.O.F.; FERDANDES, J.C.; ALDRED, V.L.; SANDOVAL, M.P.; PUORTO, G.; THEAKSTON, R.D.G.; WARREL, D.A. Snake bites by the jararacuçu (Bothrops jararacussu): clinicopathological studies of 29 proven cases in São Paulo State, Brazil. Q. J. Med., v. 90, p. 323-334, 1997.

SANTORO, M.L.; SANO-MARTINS, I.S. Platelet dysfunction during Bothrops jararaca snake envenomation in rabbits. Thromb. Haemost., v.92, p.369-383, 2004.

SANTORO, M.L.; SANO-MARTINS, I.S.; FAN, H.W.; CARDOSO, J.L.C.; THEAKSTON, R.D.G.; DAVID A.; WARRELL, D.A. Haematological evaluation of patients bitten by the jararaca, Bothrops jararaca, in Brazil, Toxicon, 2008. Disponível em: <www.sciencedirect.com/science/article/B6TCS-4S4JYM6-2/1/692b27c1cb910906cb96441d54d61b54> Acesso em: 17 abr. 2008.

SANTOS, M.M.B.; MELO, M.M.; JACOME, D.O.; FERREIRA, K.M.; SABAINI, R.M. Hemograma de cães envenenados experimentalmente com Bothrops alternatus após diferentes tratamentos. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., v.4, n.1, p.1-11, 2003.

SANTOS-SOARES, P.C.; BACELLAR, A.; POVOAS, H.P.; BRITO, A.F.; SANTAN, D.L.P. Stroke and snakebite:Case report. Arq. Neuropsiquiatr. v.65, n.2-A, p.341-344, 2007.

SILVIA, V.M.; MORIJA, G.M.; MOREIRA, W.M.Q; FONSECA, M.G. Atividade local e sistêmica do veneno de Bothrops altenatus (Duméril, Bibron & Duméril, 1854) em estudo experimental. Rev. Fafibe on-line/Faculdade, n.2, 2006. Disponível em: <www.fafibe.br/revistaonline/arquivos/mariluce_venenosserpentes.pdf>. Acesso em: 17 jul. 2007.

SIQUEIRA, J.E.; HIGUCHI, M.L.; NABUT, N.; LOSE, A.; SOUZA, J.K.; NAHASHIMA, M. Lesão miocárdica em acidente ofídico pela espécie Crotalus durissus terrificus (cascavel). Relato de caso. Arq. Bras. Cardiol., v.54, n.5, p.323-325, 1990.

SLOTTA. K.H.; FRAENKEL-CONRAT, H. Estudos químicos sobre os venenos ofidicos. 4. Purificação e cristalização do veneno da cobra cascavel. Mem. Inst. Butantan (São Paulo), v.12, p.505, 1938.

SOARES, A.M.; JANU´ARIO, A.H.; LOURENCO, M.V.; PEREIRA, A.M.S.; PEREIRA, P.S.; Neutralizing effects of Brazilian plants against snake venoms. Drugs of the Future 29, 1105–1117. In: SOERENSEN, B. Animais peçonhentos. São Paulo: Atheneu, 1990. 138p, 2004.

SOARES, A.M.; TICLI, F.K.; MARCUSSI, S.; LOURENCO, M.V.; JANUARIO, A.H.; SAMPAIO, S.V.; GIGLIO, J.R.; LOMONTE, B.; PEREIRA, P.S.; Medicinal plants with inhibitory properties against snake venoms. Curr. Med. Chem., v.12, p. 2625-2641, 2005.

SOERENSEN, B. Animais peçonhentos. São Paulo: Atheneu, 1990. 138p.

SOERENSEN, B.; BADIZ, F.P.; CHRISTOVÃO, F.G. Importância da urgência na soroterapia dos acidentes por animais peçonhentos. Estudo experimental em camundongos. Unimar Ciências, v.2, p.25-29, 1993.

SOERENSEN, B.; NETO, L.Z.; OLIVEIRA, A.M.; SANTOS, R.V.; MESSIAS, C.V. Aspecto clínico e laboratorial do envenenamento botrópico e crotálico em bovinos. Unimar Ciências, v.4, n.2, p.28-33, 1995.

SOUSA-E-SILVA, M.C.; TOMY, S.C.; TAVARES, F.L.; NAVAJAS, L.; LARSSON, M.H.; LUCAS, S.R.; KOGIKA, M.M.; SANO-MARTINS, I.S. Hematological, hemostatic and clinical chemistry disturbances induced by Crotalus durissus terrificus snake venom in dogs. Hum. Exp. Toxicol. v.22, p.491-500, 2003.

SPADACCI-MORENA, D.D.; TOMY, S.C.; SANO-MARTINS, I.S.; KATZ, S.G.The effect of experimental Bothrops jararaca envenomation on pregnant mice. Toxicon, v.47, p.196–207, 2006.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE – SVS. Acidentes por animais peçonhentos (2006). Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=26906> . Acesso em 18. abr. 2008.

TAKAHIRA, R.K. Alterações hemostáticas, hematológicas e bioquímicas de cães no envenenamento experimental por Bothrops jararaca (Wied, 1824) e Bothrops neuwiedi Wangler, 1824. 1996. 143f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

TAKAHIRA, R.K. Perfil hematológico, hemostático, bioquímico e histopatólogico do envenenamento experimental de cães por Bothrops alternatus Duméril, 1854 e Bothrops moojeni Hoge, 1966. 1999. 195f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

THEAKSTON, R.D.G.; LLOYD-JONES, M.G.; REID, H.A.; Micro-ELISA for detecting and assaying venom and venom-antibody. Lancet, v.2, p.639-641,1977.

THOMAZINI, I.A.; IUAN, F.C.; CARVALHO, I.; HERNANDES, D.H.; AMARAL, I.F.; PEREIRA, P.C.M.; BARRAVIERA, B. Evaluation of platelet function and of serum fibrinogen levels in patients bitten by snakes of the genus Crotalus. Preliminary report. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, v.33, n.3, p.219-220, 1991.

THRALL, M.A. Hematologia e bioquímica: clínica veterinária. São Paulo: Roca, 2007. 582 p.

TILLEY, L.P.; SMITH, F.W.K. Consulta veterinária em 5 minutos. 2.ed. São Paulo: Manole, 2003. 1423p.

TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V. A importância dos acidentes ofídicos como causa de mortes em bovinos no Brasil. Pesq. Vet. Bras., v.26, n.2 p.55-68, 2006.

TOYAMA, M.H.; CARNEIRO, E.M.; MARANGONI, S.; BARBOSA, R.L.; CORSO, G.; BOSCHERO, C. Biochemical characterization of two crotamine isoforms isolated by a single step RP-HPLC from Crotalus durissus terrificus (South American rattlesnake) venom and their action on insulin secretion by pancreatic islets. Biochim Biophys Acta, v.6, n.1474, p.56-60, 2000.

UNOESTE. Valores de referência para ratos Wistar criados no Biotério central da Universidade do Oeste Paulista. Presidente Prudente: Biotério Central da Universidade do Oeste Paulista, 2008. E-mail.

VENEZIANI, R.C.S.; CAMILO, D.; OLIVEIRA, R.; Constituents of Mikania glomerata Sprengel. Biochem. Syst. Ecol. v.27, p.99–102, 1999.

VIEIRA, D.F.; WATANABE, L.; SANT´ANA, C.D.; MARCUSSI, S.; SAMPAIO, S.V.; SOARES, A.M.; ARNI, R.K. Purification and Characterization of Jararassin-I, A Thrombin-like Enzyme from Bothrops jararaca Snake Venom. Acta Biochim. Biophys. Sin., v.36, n.12, p.798–802, 2004.

VIEIRA, C.A.; VIEIRA, L.O.; BUENO, J.J.R.; DEBIASI, M.R.M.; MANCIM, A.C.; GIGLIO, J.R. Ação de vários agentes sobre o efeito paralisante dos membros posteriores induzido pela crotamina em camundongos. Bioscienc. J., v.22, p.125-132, 2006.

VILEGAS, J.H.Y.; MARCHI, E.; LANÇAS, F.M. Extration of low-polarity compounds (with amphasis on coumarin and Kaurenoic acid) from Mikania glomerata (‘guaco’) leaves. Phytochem. Anal., v.8, p.266-270, 1997.

VITAL BRAZIL, O. Pharmacology of crystalline crotoxin. III Cardio-vascular and respiratory effects of crotoxin and Crotalus durissus terrificus venom. Mem. Inst. Butantan (São Paulo), v.33, n.3, p.993-1000, 1966.

VITAL BRAZIL, O. Neurotoxins from the South American Rattlesnake Venom. J. Formosan. Med. Assoc., v.71, p.394-400, 1972.

VITAL BRAZIL, O. Venenos ofídicos neurotóxicos. Rev. Assoc. Med. Bras.,v.26, p.212-218, 1980.

WAJCHENBERG, B.L.; SESSO, J.; INAGUE, T. Feições clínico-laboratoriais do envenenamento crotálico humano. Rev. Ass. méd. bras., v.1, p. 179-193, 1954.

WEN, F.H.; CARDOSO, J.L.C.; MALAQUE, C.M.S.; FRANÇA, F.O.S.; SANT´ANNA, S.S.; FERNANDES, W.; FURTADO, M.F.; FRANCO, F., ALBUQUERQUE, M.J.; KRONCA, F.J.; NALON, M.A.; RÚBIO, G.B.G.; DA SILVA, E.M.; JÚLIO CÉSAR MOURA LEITE, J.C.M. Influências das alterações ambientais na epidemiologia dos acidentes ofídicos e na distribuição geográfica das serpentes de importância médica nos estados de São Paulo e Paraná, 1988-1997. Inf. Epidemiol. SUS, v.11, n.1, p.45-47, 2002.

YILDIRIM, A.; BAYRAKTAROGLU, Z.; GUNAY, N.; BOZKURT, S. KOSE, A.; YILMAZ, M. The use of therapeutic plasmapheresis in the treatment of poisoned and snake bite victims: an academic emergency department’s experiences. J. Clin. Apher., v.21, n.4, p.219-223, 2006.

Anexos

QUADRO 8. Valores individuais da temperatura (°C) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno Botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	37,5	37,1	35,9
	2	37,1	36,7	37
	3	37	37	35,6
	4	37	37,6	36,2
	5	37	37,4	37,4
	6	37,2	37,2	37,4
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	36,5	36,2	35,8
	2	35,2	36,9	39,4
	3	38,5	35,8	40,7
	4	38,6	34,2	38,6
	5	36,8	35,4	34,6
	6	38	35,9	38,7
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	35,8	35,6	37,8
	2	38,1	35,6	38
	3	38	35,2	36,7
	4	37,3	33,7	38,6
	5	35,7	36,5	38,3
	6	34,6	33,2	37,5

QUADRO 9. Valores individuais da freqüência respiratória (mpm) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	90	92	120
	2	100	92	68
	3	92	120	122
	4	96	88	136
	5	136	128	120
	6	112	90	132
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	48	56	116
	2	56	80	112
	3	108	103	72
	4	99	96	120
	5	108	76	102
	6	120	80	140
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	104	84	108
	2	90	92	112
	3	90	96	112
	4	96	108	144
	5	108	112	126
	6	116	84	104

QUADRO 10. Valores individuais da freqüência cardíaca (bpm) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno Botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	228	232	184
	2	228	232	220
	3	208	216	204
	4	228	224	184
	5	204	200	210
	6	212	208	200
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	180	228	88
	2	140	160	92
	3	160	236	228
	4	220	180	200
	5	160	212	112
	6	208	200	206
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	212	216	180
	2	160	200	196
	3	200	222	216
	4	180	224	204
	5	216	212	212
	6	224	224	204

QUADRO 11. Valores individuais do edema de membro direito (cm) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	0,6	0,7	0,7
	2	0,6	0,9	0,6
	3	0,6	0,7	0,7
	4	0,8	0,8	0,8
	5	0,7	0,8	0,6
	6	0,7	0,7	0,7
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	1	0,8	0,8
	2	1	0,8	0,9
	3	1	0,7	1
	4	1	0,6	0,9
	5	1	1	0,9
	6	1	0,6	0,8
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	1,1	0,8	0,8
	2	0,8	0,8	0,7
	3	1,1	0,9	1,2
	4	0,8	0,8	0,8
	5	0,8	0,9	1
	6	1	0,7	1,2

QUADRO 12. Valores individuais do edema de membro esquerdo (cm) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno Botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	0,6	0,7	0,9
	2	0,8	1	0,7
	3	0,8	0,7	0,8
	4	0,9	1,1	0,8
	5	0,7	0,9	0,7
	6	0,8	0,9	0,7
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	1,9	1,9	1,6
	2	1,8	1,2	1,8
	3	1,7	1,4	1,4
	4	1,8	1,5	1,4
	5	1,8	1,5	1,4
	6	2	1,2	1,3
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	1,5	1,4	1,7
	2	1,8	1,5	1,6
	3	1,7	1,5	1,6
	4	1,6	1,5	1,4
	5	1,7	1,5	1,6
	6	1,7	1,4	1,9

QUADRO 13. Valores individuais da uréia (mg/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	12,8	29,2	46,7
	2	38,2	54,2	49,3
	3	52,6	44,9	50,1
	4	57,2	34	47,7
	5	42,3	47	47,4
	6	36,3	60,1	44,9
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	53,3	73,7	195,9
	2	65,2	140,9	69,6
	3	48,4	80,1	25,2
	4	38,8	100	75,3
	5	45,7	101,7	76,9
	6	49,5	103,6	72,7
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	48,7	159,8	50,7
	2	69,7	135,9	47
	3	68,6	57,3	177,5
	4	65,7	212,5	41,6
	5	73,5	139,2	33,3
	6	72,3	88,5	242,5

QUADRO 14. Valores individuais da creatinina (mg/dL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno Botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	0,67	0,62	0,46
	2	0,62	0,6	0,4
	3	0,58	0,57	0,57
	4	0,51	0,55	0,46
	5	0,58	0,61	0,42
	6	0,6	0,49	0,45
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	0,54	0,68	1,05
	2	0,66	0,95	0,76
	3	0,55	0,62	0,71
	4	0,76	0,7	0,8
	5	0,88	0,87	0,69
	6	0,77	0,75	0,62
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	0,73	1,05	0,71
	2	0,64	0,88	0,73
	3	0,78	0,57	0,92
	4	0,82	1,60	0,65
	5	0,65	0,83	0,68
	6	0,64	0,66	0,75

QUADRO 15. Valores individuais da creatinoquinase (mg/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	76,4	63,8	61,9
	2	48,7	58,5	76,7
	3	51,1	44,2	106,7
	4	22,8	126,9	96,9
	5	21,6	16	14,4
	6	12,9	53,6	51,7
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	364,7	122,3	83,3
	2	100,8	56,1	31,9
	3	89,9	69,1	14,2
	4	129,3	85,8	20,1
	5	187,5	82,5	17,7
	6	141,6	66	16
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	294,4	242,1	8,8
	2	222,2	148	21,1
	3	139,4	118,9	54,3
	4	195,4	334,2	18,2
	5	87,6	442,7	36,3
	6	201	321,3	12,4

QUADRO 16. Valores individuais do número de hemácias (/µL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno Botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	7.410.000,00	6.890.000,00	6.850.000,00
	2	7.630.000,00	6.890.000,00	7.190.000,00
	3	8.430.000,00	6.520.000,00	6.620.000,00
	4	8.430.000,00	7.360.000,00	6.850.000,00
	5	8.500.000,00	6.520.000,00	6.620.000,00
	6	8.270.000,00	7.400.000,00	7.210.000,00
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	7.460.000,00	7.470.000,00	5.210.000,00
	2	8.590.000,00	6.640.000,00	6.070.000,00
	3	9.750.000,00	5.700.000,00	7.070.000,00
	4	9.110.000,00	6.560.000,00	6.130.000,00
	5	9.680.000,00	6.200.000,00	6.070.000,00
	6	9.700.000,00	6.410.000,00	4.650.000,00
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	10.900.000,00	8.110.000,00	6.240.000,00
	2	9.370.000,00	8.110.000,00	6.040.000,00
	3	10.470.000,00	8.180.000,00	8.780.000,00
	4	9.370.000,00	7.620.000,00	5.920.000,00
	5	9.590.000,00	7.620.000,00	6.170.000,00
	6	9.920.000,00	9.010.000,00	8.430.000,00

QUADRO 17. Valores individuais da hemoglobina (g/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	14,4	13,8	14,7
	2	14,8	13,2	14,5
	3	14,6	13,7	13,9
	4	14,9	14,4	14,7
	5	14,5	13,7	13,9
	6	14,3	14,9	13,8
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	15,9	15,9	11,2
	2	17,1	14,4	12,2
	3	16,3	12,0	13,6
	4	17,1	13,5	11,9
	5	18,0	15,0	12,2
	6	16,1	12,4	9,8
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	19,2	15,5	11,1
	2	19,6	16,7	12,0
	3	19,4	15,6	16,7
	4	19,6	14,1	11,7
	5	18,4	13,7	11,7
	6	18,3	16,5	15,5

QUADRO 18. Valores individuais do volume globular (%) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno Botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	42,0	41,0	43,0
	2	45,0	40,0	43,0
	3	43,0	43,0	42,0
	4	44,0	43,0	43,0
	5	44,0	43,0	42,0
	6	43,0	43,0	42,0
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	50,0	48,0	35,0
	2	50,0	43,0	38,0
	3	48,0	33,0	42,0
	4	49,0	40,0	37,0
	5	52,0	45,0	38,0
	6	50,0	37,0	30,0
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	55,0	46,0	33,0
	2	55,0	48,0	35,0
	3	55,0	46,0	50,0
	4	55,0	42,0	35,0
	5	51,0	42,0	35,0
	6	52,0	50,0	48,0

QUADRO 19. Valores individuais do número de leucócitos (/µL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	3.800,00	6.000,00	6.200,00
	2	4.800,00	5.100,00	5.900,00
	3	6.900,00	4.800,00	4.200,00
	4	5.200,00	6.000,00	6.200,00
	5	5.100,00	4.800,00	4.200,00
	6	6.200,00	4.400,00	5.500,00
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	11.400,00	12.800,00	8.400,00
	2	14.000,00	8.500,00	7.900,00
	3	11.600,00	9.600,00	1.500,00
	4	28.100,00	13.600,00	14.600,00
	5	21.500,00	5.800,00	7.900,00
	6	13.000,00	14.200,00	10.500,00
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	9.300,00	25.300,00	5.200,00
	2	13.700,00	12.100,00	15.300,00
	3	9.200,00	17.300,00	4.600,00
	4	11.000,00	21.200,00	10.700,00
	5	13.000,00	18.700,00	8.800,00
	6	10.600,00	10.800,00	4.400,00

QUADRO 20. Valores individuais do número de neutrófilos (/µL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno Botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	1.482,00	1.620,00	2.170,00
	2	2.112,00	2.346,00	1.888,00
	3	2.967,00	1.680,00	2.100,00
	4	2.600,00	2.100,00	2.170,00
	5	1.938,00	1.680,00	2.100,00
	6	2.666,00	1.276,00	1.650,00
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	5.928,00	9.472,00	1.176,00
	2	5.040,00	5.270,00	790,00
	3	4.988,00	1.248,00	810,00
	4	7.868,00	9.384,00	4.964,00
	5	9.890,00	2.726,00	790,00
	6	7.280,00	9.230,00	3.780,00
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	3.348,00	17.963,00	3.068,00
	2	5.206,00	6.655,00	9.639,00
	3	3.772,00	12.456,00	3.082,00
	4	5.000,00	15.688,00	5.778,00
	5	7.800,00	12.716,00	4.852,00
	6	4.558,00	7.668,00	1.804,00

QUADRO 21. Valores individuais do número de linfócitos (/µL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	1.938,00	3.960,00	3.348,00
	2	2.160,00	2.499,00	2.891,00
	3	3.174,00	2.736,00	1.638,00
	4	2.340,00	3.600,00	3.348,00
	5	2.805,00	2.736,00	1.638,00
	6	2.976,00	2.904,00	3.520,00
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	4.560,00	1.792,00	5.964,00
	2	7.840,00	2.720,00	6.241,00
	3	6.148,00	3.936,00	300,00
	4	18.265,00	2.856,00	7.008,00
	5	10.535,00	1.856,00	6.241,00
	6	4.810,00	4.402,00	6.405,00
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	5.580,00	5.819,00	1.612,00
	2	7.261,00	4.840,00	3.366,00
	3	4.876,00	3.633,00	874,00
	4	5.500,00	5.088,00	3.210,00
	5	4.550,00	3.553,00	3.168,00
	6	5.830,00	2.268,00	2.376,00

QUADRO 22. Valores individuais da proteína plasmática total (g/dL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno Botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	6,60	6,20	6,80
	2	6,40	6,00	7,20
	3	6,40	5,80	7,00
	4	6,40	6,40	6,80
	5	6,40	5,80	7,00
	6	6,20	6,40	6,60
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	5,40	5,00	5,20
	2	5,00	4,40	4,60
	3	5,00	4,80	5,80
	4	5,00	5,00	5,40
	5	4,60	5,00	4,60
	6	4,60	5,00	5,00
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	5,80	5,20	5,00
	2	6,00	6,00	5,60
	3	6,40	5,60	4,60
	4	6,00	5,00	5,60
	5	6,60	5,40	5,60
	6	7,00	5,40	5,00

QUADRO 23. Valores individuais do número do fibrinogênio (mg/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	200,00	200,00	200,00
	2	200,00	400,00	200,00
	3	400,00	200,00	400,00
	4	400,00	200,00	200,00
	5	400,00	200,00	400,00
	6	200,00	200,00	200,00
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	400,00	200,00	200,00
	2	200,00	400,00	200,00
	3	200,00	200,00	400,00
	4	200,00	200,00	400,00
	5	200,00	400,00	200,00
	6	400,00	200,00	200,00
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	400,00	400,00	400,00
	2	400,00	400,00	400,00
	3	200,00	200,00	400,00
	4	300,00	200,00	200,00
	5	400,00	400,00	200,00
	6	400,00	200,00	200,00

QUADRO 24. Valores individuais da temperatura (°C) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	37,5	37,1	35,9
	2	37,1	36,7	37
	3	37	37	35,6
	4	37	37,6	36,2
	5	37	37,4	37,4
	6	37,2	37,2	37,4
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	37,8	36,5	35,6
	2	38,2	35,3	36,1
	3	36,5	32,6	37,4
	4	36,7	35,1	35,3
	5	37,7	32,8	34,9
	6	36,6	35,4	35,6
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	35,8	33,4	35,4
	2	38,3	35,2	34,6
	3	33,8	35,8	36,4
	4	35,1	34,2	32
	5	35,6	36,1	35,3
	6	38	36,2	36,9

QUADRO 25. Valores individuais da freqüência respiratória (mpm) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	90	92	120
	2	100	92	68
	3	92	120	122
	4	96	88	136
	5	136	128	120
	6	112	90	132
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	88	80	138
	2	120	92	120
	3	148	102	120
	4	124	116	120
	5	80	72	112
	6	116	80	116
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	84	124	108
	2	100	154	144
	3	92	112	119
	4	92	136	92
	5	128	80	120
	6	80	112	132

QUADRO 26. Valores individuais da freqüência cardíaca (bpm) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	228	232	184
	2	228	232	220
	3	208	216	204
	4	228	224	184
	5	204	200	210
	6	212	208	200
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	204	240	87
	2	212	200	76
	3	228	232	228
	4	224	144	68
	5	180	156	77
	6	228	240	224
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	220	232	176
	2	240	204	204
	3	204	192	126
	4	200	224	164
	5	224	200	200
	6	192	212	204

QUADRO 27. Valores individuais do edema de membro direito (cm) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	0,6	0,7	0,7
	2	0,6	0,9	0,6
	3	0,6	0,7	0,7
	4	0,8	0,8	0,8
	5	0,7	0,8	0,6
	6	0,7	0,7	0,7
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	0,6	0,9	0,9
	2	0,8	1	0,9
	3	0,8	0,9	0,6
	4	0,8	0,9	1
	5	0,6	1,2	1,1
	6	1	1,1	0,6
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	0,9	0,8	1
	2	1	0,8	0,8
	3	1	0,8	0,9
	4	1	0,8	0,9
	5	0,9	0,7	0,8
	6	0,9	0,8	1

QUADRO 28. Valores individuais do edema de membro esquerdo (cm) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	0,6	0,7	0,9
	2	0,8	1	0,7
	3	0,8	0,7	0,8
	4	0,9	1,1	0,8
	5	0,7	0,9	0,7
	6	0,8	0,9	0,7
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	1,2	1,6	1,2
	2	1,3	1,4	1,1
	3	1,5	1,4	0,8
	4	1,3	1,3	1,3
	5	1,2	1,7	1,6
	6	1,4	1,8	0,9
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	1,1	1,3	1,2
	2	1,4	1	1,2
	3	1,3	1	1,2
	4	1,5	1	1,4
	5	1,5	1	1,4
	6	1,2	1,2	1,3

QUADRO 29. Valores individuais da uréia (mg/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	12,8	29,2	46,7
	2	38,2	54,2	49,3
	3	52,6	44,9	50,1
	4	57,2	34	47,7
	5	42,3	47	47,4
	6	36,3	60,1	44,9
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	73	62,5	38,6
	2	60,7	59,3	32,4
	3	64,8	59,4	48,1
	4	71,7	57,2	41,9
	5	68,8	77,1	43,4
	6	79,1	48,7	42,6
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	66,1	79,2	169,5
	2	65,9	60,3	52,9
	3	78	59,4	83
	4	65,5	54,9	99,6
	5	61,2	68,9	47,9
	6	69,8	52,9	45,2

QUADRO 30. Valores individuais da creatinina (mg/dL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	0,67	0,62	0,46
	2	0,62	0,6	0,4
	3	0,58	0,57	0,57
	4	0,51	0,55	0,46
	5	0,58	0,61	0,42
	6	0,6	0,49	0,45
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	0,88	0,6	0,77
	2	1,02	0,6	0,72
	3	0,81	0,6	0,7
	4	0,94	0,53	0,38
	5	1	0,6	0,58
	6	0,97	0,6	0,55
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	0,78	0,69	0,75
	2	0,93	0,58	0,65
	3	0,78	0,53	0,72
	4	0,64	0,50	0,66
	5	0,66	0,52	0,61
	6	0,75	0,49	0,58

QUADRO 31. Valores individuais da creatinoquinase (mg/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	76,4	63,8	61,9
	2	48,7	58,5	76,7
	3	51,1	44,2	106,7
	4	22,8	126,9	96,9
	5	21,6	16	14,4
	6	12,9	53,6	51,7
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	345,5	333,6	61,9
	2	431,6	600,3	76,7
	3	180,6	637,1	106,7
	4	618,8	85,8	96,9
	5	708	283,9	14,4
	6	580	369,8	51,7
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	562,8	224,3	14,4
	2	384,6	224,3	226,4
	3	297,1	315,2	76
	4	450,4	384,8	16
	5	179,5	360,8	81,8
	6	399	106,7	45,7

QUADRO 32. Valores individuais do número de hemácias (/µL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	7.410.000,00	6.890.000,00	6.850.000,00
	2	7.630.000,00	6.890.000,00	7.190.000,00
	3	8.430.000,00	6.520.000,00	6.620.000,00
	4	8.430.000,00	7.360.000,00	6.850.000,00
	5	8.500.000,00	6.520.000,00	6.620.000,00
	6	8.270.000,00	7.400.000,00	7.210.000,00
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	8.140.000,00	6.750.000,00	6.590.000,00
	2	8.570.000,00	7.120.000,00	6.000.000,00
	3	7.880.000,00	6.700.000,00	8.250.000,00
	4	8.530.000,00	5.000.000,00	7.620.000,00
	5	9.240.000,00	6.350.000,00	7.860.000,00
	6	9.500.000,00	5.750.000,00	7.390.000,00
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	10.270.000,00	8.870.000,00	8.950.000,00
	2	10.370.000,00	8.870.000,00	9.000.000,00
	3	11.230.000,00	8.240.000,00	7.980.000,00
	4	11.540.000,00	8.090.000,00	9.340.000,00
	5	10.200.000,00	7.270.000,00	8.770.000,00
	6	8.660.000,00	7.700.000,00	8.400.000,00

QUADRO 33. Valores individuais da hemoglobina (g/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	14,4	13,8	14,7
	2	14,8	13,2	14,5
	3	14,6	13,7	13,9
	4	14,9	14,4	14,7
	5	14,5	13,7	13,9
	6	14,3	14,9	13,8
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	18,0	16,6	14,6
	2	18,0	17,8	14,4
	3	17,1	16,3	16,6
	4	17,1	13,8	14,9
	5	17,6	17,3	14,8
	6	17,6	16,2	14,4
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	19,0	16,5	17,4
	2	20,3	16,5	15,6
	3	20,6	16,3	15,4
	4	20,5	16,5	15,9
	5	18,8	16,3	15,1
	6	18,2	16,0	15,2

QUADRO 34. Valores individuais do volume globular (%) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	42,0	41,0	43,0
	2	45,0	40,0	43,0
	3	43,0	43,0	42,0
	4	44,0	43,0	43,0
	5	44,0	43,0	42,0
	6	43,0	43,0	42,0
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	53,0	50,0	45,0
	2	57,0	52,0	45,0
	3	52,0	49,0	50,0
	4	52,0	42,0	44,0
	5	53,0	52,0	44,0
	6	55,0	49,0	42,0
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	53,0	50,0	52,0
	2	61,0	50,0	47,0
	3	53,4	50,0	47,0
	4	59,0	50,0	49,0
	5	54,0	47,0	47,0
	6	51,0	48,0	45,0

QUADRO 35. Valores individuais do número de leucócitos (/µL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	3.800,00	6.000,00	6.200,00
	2	4.800,00	5.100,00	5.900,00
	3	6.900,00	4.800,00	4.200,00
	4	5.200,00	6.000,00	6.200,00
	5	5.100,00	4.800,00	4.200,00
	6	6.200,00	4.400,00	5.500,00
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	11.200,00	8.900,00	3.000,00
	2	5.200,00	7.300,00	3.100,00
	3	12.300,00	13.400,00	3.300,00
	4	14.200,00	8.300,00	3.000,00
	5	9.300,00	5.900,00	3.400,00
	6	8.300,00	6.200,00	5.700,00
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	6.900,00	19.000,00	7.300,00
	2	9.100,00	19.000,00	4.800,00
	3	10.200,00	6.700,00	2.400,00
	4	10.700,00	15.800,00	6.600,00
	5	8.300,00	9.200,00	8.000,00
	6	14.100,00	14.400,00	2.700,00

QUADRO 36. Valores individuais do número de neutrófilos (/µL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	1.482,00	1.620,00	2.170,00
	2	2.112,00	2.346,00	1.888,00
	3	2.967,00	1.680,00	2.100,00
	4	2.600,00	2.100,00	2.170,00
	5	1.938,00	1.680,00	2.100,00
	6	2.666,00	1.276,00	1.650,00
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	4.144,00	7.209,00	1.440,00
	2	2.964,00	5.548,00	1.457,00
	3	5.043,00	10.854,00	1.716,00
	4	6.390,00	6.723,00	1.440,00
	5	5.394,00	5.133,00	1.258,00
	6	5.312,00	5.022,00	2.679,00
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	3.519,00	15.580,00	5.329,00
	2	3.640,00	15.580,00	3.984,00
	3	4.692,00	5.025,00	1.800,00
	4	4.173,00	13.430,00	4.356,00
	5	2.075,00	6.348,00	6.560,00
	6	5.076,00	10.512,00	2.160,00

QUADRO 37. Valores individuais do número de linfócitos (/µL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	1.938,00	3.960,00	3.348,00
	2	2.160,00	2.499,00	2.891,00
	3	3.174,00	2.736,00	1.638,00
	4	2.340,00	3.600,00	3.348,00
	5	2.805,00	2.736,00	1.638,00
	6	2.976,00	2.904,00	3.520,00
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	6.048,00	979,00	1.050,00
	2	1.716,00	1.314,00	1.488,00
	3	6.150,00	2.144,00	1.353,00
	4	6.390,00	1.162,00	1.320,00
	5	3.348,00	531,00	1.870,00
	6	1.992,00	868,00	2.394,00
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	2.622,00	2.470,00	1.679,00
	2	4.186,00	2.470,00	480,00
	3	4.998,00	1.273,00	312,00
	4	5.457,00	2.212,00	1.914,00
	5	5.976,00	2.392,00	720,00
	6	7.755,00	3.456,00	324,00

QUADRO 38. Valores individuais da proteína plasmática total (g/dL) dos ratos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno crotálico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	6,60	6,20	6,80
	2	6,40	6,00	7,20
	3	6,40	5,80	7,00
	4	6,40	6,40	6,80
	5	6,40	5,80	7,00
	6	6,20	6,40	6,60
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	6,40	6,20	7,40
	2	7,00	6,00	7,40
	3	6,40	6,00	8,00
	4	6,00	5,40	7,80
	5	6,20	5,40	7,00
	6	5,80	6,00	7,60
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	6,00	6,60	6,60
	2	6,20	6,60	6,40
	3	6,20	6,00	7,20
	4	7,00	6,60	5,60
	5	6,20	6,00	6,40
	6	6,00	6,20	7,00

QUADRO 39. Valores individuais do número do fibrinogênio (mg/dL) dos ratos dos grupos G1 VB, G2 VB e G3 VB em diferentes momentos após a inoculação do veneno botrópico.

	Animais	M1	M2	M3
G1VB	1	200,00	200,00	200,00
	2	200,00	400,00	200,00
	3	400,00	200,00	400,00
	4	400,00	200,00	200,00
	5	400,00	200,00	400,00
	6	200,00	200,00	200,00
G2VB	Animais	M1	M2	M3
	1	200,00	400,00	400,00
	2	200,00	400,00	200,00
	3	200,00	200,00	600,00
	4	200,00	200,00	400,00
	5	200,00	200,00	200,00
	6	200,00	400,00	400,00
G3VB	Animais	M1	M2	M3
	1	200,00	400,00	400,00
	2	200,00	400,00	400,00
	3	200,00	200,00	400,00
	4	400,00	200,00	200,00
	5	200,00	200,00	400,00
	6	200,00	200,00	400,00

Trabalhos científicos

AVALIAÇÕES CLÍNICA, LABORATORIAL E HISTOPATOLÓGICA DA INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR VENENO DA SERPENTE Bothrops jararaca EM RATOS WISTAR E TRATADOS COM ANTIVENENO E Mikania glomerata.

Evaluations clinic, laboratorial and histopathological of experimental intoxication for venom of the serpent Bothrops jararaca in Wistar rats is treated with antivenin and Mikania glomerata.

AUTORES:

Yudney Pereira da Motta

Michiko Sakate*

Rosa Maria Barilli Nogueira

Rafael Stuani Floriano

Fabíola Sangiorgio

Cecília Braga Laposy

Osimar Sanches

João Marcelo Nabas

Rosimery Fukui

INSTITUIÇÃO:

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus Botucatu

* Prof. Ass. Dra. Michiko Sakate
Universidade Estadual Paulista – UNESP/ Botucatu
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) - Departamento de Clínica Veterinária
Distrito Rubião Júnior, sem número. Botucatu-SP. CEP: 18618-000
e-mail: michikos@fmvz.unesp.br

AVALIAÇÕES CLÍNICA, LABORATORIAL E HISTOPATOLÓGICA DA INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR VENENO DA SERPENTE Bothrops jararaca EM RATOS WISTAR E TRATADOS COM ANTIVENENO E Mikania glomerata.

Evaluations clinic, laboratorial and histopathological of experimental intoxication for venom of the serpent Bothrops jararaca in Wistar rats is treated with antivenin and Mikania glomerata.

.

INTRODUÇÃO

Os acidentes por animais peçonhentos constituem, em muitas partes do mundo, especialmente nas áreas rurais de países tropicais e subtropicais, problema de ordens médica, social e econômica[4].

Dos quatro gêneros de serpentes peçonhentas, verifica-se o predomínio do acidente botrópico, que corresponde a 87,5% do total de ofidismo notificado no país, seguidos pelo crotálico (9,2%), laquético (2,7%) e elapídico (0,6%), com pequenas variações de acordo com a região e a distribuição geográficas das serpentes. [6]

As serpentes Bothrops jararaca são consideradas de grande importância tanto para seres humanos como em animais devido à gravidade do quadro clínico que causam, e na maioria das vezes fatal quando o tratamento com soro específico não é instituído precocemente. [4]

Os acidentes ofídicos requerem cuidados médicos urgentes. Atualmente, o único tratamento cientificamente validado é a soroterapia.[11] Mesmo sendo o tratamento recomendado, ainda apresenta algumas desvantagens, como: (1) limitado ou nenhum acesso ao soro antiofídico na zona rural, de países em desenvolvimento, onde a maioria dos acidentes acontece; (2) variações significantes na composição do veneno e reatividade antigênica devido às diversidades de serpentes que podem causar limitações durante a soroterapia; (3) possibilidade de ocorrência de reações adversas em pacientes devido à infusão de proteínas animais; e (4) efetividade limitada da soroterapia para proteger os efeitos prejudiciais no local da picada. Assim, a procura contínua e identificação de novas combinações que possam ser úteis como terapia alternativa ou complementar na intoxicação por veneno de serpente é uma tarefa pertinente.[23]

A planta Mikania glomerata, da família Asteraceae, encontrada na Mata Atlântica brasileira e popularmente conhecida como “Guaco” de acordo com a tradição popular, além do tratamento de tosse e

bronquite, é também usada como antídoto contra veneno de certas serpentes e escorpiões e contra artrites.[10] Extrato vegetal constitui uma alternativa para tratamento de ofidismo, já que um número grande de extratos mostrou boas atividades antivenenos.[12,14,22,23]

A alta incidência de casos de acidentes ofídicos , as desvantagens do uso da soroterapia como o único tratamento contra os acidentes ofídicos, a existência de poucos trabalhos sobre o efeito do tratamento de intoxicações ofídicas com a planta Mikania glomerata em relação a aspectos clínicos, laboratoriais e histopatólogios em ratos Wistar e sobre os estudo das ações do veneno botrópico e crotálico em relação a aspectos clínicos, laboratoriais e histopatológicos em ratos Wistar, sustentam a proposta do presente estudo em avaliar as alterações dos aspectos clínicos, laboratoriais e histopatológicos da intoxicação experimental pelos veneno da serpente Bothrops jararaca em ratos Wistar e tratados com soro antiofídico e extrato de Mikania glomerata.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ratos Wistar, fêmeas, de 2 meses de idade e peso corporal entre 230 e 300 gramas. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas no biotério de experimentação, em ambiente com controle de luz (ciclos de 12 horas) e temperatura constante (25ºC), umidade do ar de 55-65%, tempo de exaustão de 10 trocas de ar da sala/hora, recebendo dieta padrão para animais de laboratório (Purina®) e água ad libitum. Os animais foram divididos em 3 grupos (G) experimentais: G1- controle; G2- inoculação de 10 mg/kg de veneno botrópico + soro antiofídico (Vencofarma®) na dose recomendada pelo fabricante para neutralizar a quantidade inoculada em cada rato e o G3- inoculação de 10 mg/kg de veneno botrópico + soro antiofídico (Vencofarma®) na dose recomendada pelo fabricante para neutralizar a quantidade inoculada em cada rato + extrato de Mikania glomerata 10% no volume de 1 mL, no intervalo de 2 horas, com três repetições após a inoculação do veneno. Cada grupo foi avaliado em três momentos: M1 30 minutos após a inoculação do veneno, M2 6 horas após a inoculação do veneno e M3, 24 horas após a inoculação do veneno. Para cada momento, foram avaliados: temperatura retal (°C), freqüências respiratória (mpm) e cardíaca (bpm), edema de membro direito e esquerdo (cm), grau de sedação, locomoção, presença de coagulação, uréia, creatinina, creatinoquinase, número de hemácias, neutrófilos, linfócitos, leucócitos, hemoglobina, volume globular e histopatologia do rim e da musculatura no local onde foi inoculado o veneno. O extrato de Mikania glomerata foi administrado por via

intragástrica (gavage). O veneno foi inoculado no membro esquerdo, na região de terço médio da face lateral da coxa. Os animais foram submetidos à eutanásia no final de cada momento e para tal procedimento foi utilizado pentobarbital, na dose de 150mg/kg por via intraperitoneal. O sangue dos animais foi coletado por punção intracardíaca, uma única vez e os materiais coletados para histopatológico foram fixados com formol a 10%. e posteriormente corados em hematoxilina e eosina (HE).

O eritrograma consistiu da contagem total de eritrócitos em contador eletrônico de células (CELM – CC-530) e determinação do volume globular pelo método de microhematócrito (Micro EULAB – Modelo 024). O cálculo dos índices hematimétricos foi realizado segundo Jain (1993), a proteína plasmática total foi determinada por refratometria (AST – Japan) e a dosagem do fibrinogênio plasmático foi feita de acordo com a técnica de precipitação pelo calor. A contagem total de leucócitos foi realizada em contador automático de células, e a contagem diferencial de leucócitos foi realizada em 100 células em esfregaços corados com Diff Quick [4] (Jain, 1986). As amostras de soro para realização dos exames bioquímicos foram obtidas por centrifugação do sangue. As amostras foram mensuradas para: uréia pelo método da uréase (Uréia – Kit Labest- Lagoa Santa - MG), creatinina pelo método cinético de tempo fixo utilizando picrato alcalino (Creatinina –Kit Bioclin- Belo Horizonte-MG) e CK pelo método Okinaka modificado (CK – Kit Doles – Goiânia – GO).

As amostras colhidas, para histopatologia, foram fixadas em solução de formalina tamponada a 10%, e em seguida, clivadas e submetidas a processamento histológico de rotina para inclusão em parafina e cortes em micrótomo rotativo a 5µ. Os cortes foram corados pela hematoxilina-eosina (HE) e examinados à microscopia óptica. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais que receberam o veneno botrópico apresentaram hipotermia 6 horas após a inoculação do veneno e não houve diferença entre os tratamentos (Tab. 1). O veneno botrópico, além de causar hemorragias que poderiam ter relação com a hipotermia, também causa hipotensão arterial por um composto conhecido como bradicinina que poderia ser causa de hipotermia[16,19]. A frequencia respiratória (Tab. 1) manteve-se dentro dos valores de referencia para espécie[27], mas houve uma pequena diminuição 6 horas após a aplicação do veneno no grupo onde o tratamento foi só com soroterapia, e a causa de não

apresentar esta diminuição no grupo com o tratamento complementar pode representar uma ação do extrato de Mikania glomerata. Em relação a freqüência cardíaca (Tab. 1) os animais não apresentaram alterações significantes ($p>0,05$) e os valores se mantiveram dentro dos de referencia.[27] O edema de membro posterior direito (Tab. 1), membro que não recebeu veneno, esteve aumentado, em alguns momentos, nos dois grupos que receberam a inoculação do veneno botrópico sendo que não houve diferença entre os tratamentos o que vem de acordo com Silvia et al[21] que não observaram grande variação no diâmetro do membro colateral após inoculação de veneno botrópico. O membro que recebeu a inoculação do veneno botrópico teve uma grande variação (Tab. 1) em relação ao mesmo membro do grupo controle, o que está de acordo alguns autores que relatam e observaram esta alteração no acidente botrópico[1,3,6,9,16,21].

Dois animais apresentaram sedação moderada no momento M3 (24 horas após a inoculação) no grupo com o tratamento com soroterapia (G2) e dois animais apresentaram, sedação moderada, no momento M2 (6 horas após a inoculação). Esta alteração pode estar relacionada a acidente vascular cerebral como já foi observada por outro autor [20]. Não houve diferença em relação a locomoção, e esta esteve presente em todos os animais. Quando observada a presença de coagulação, apenas 3 animais do grupo G2 e do grupo G3, nos momentos M2 de cada grupo, apresentaram incoagulabilidade sangüínea, o que pode estar relacionado, ao rato ter uma resistência maior em relação aos outros animais que apresentam alterações hemostáticas pouco após a intoxicação por veneno botrópico [2, 11,15]. Não houve diferença entre os tratamentos.

Nos exames laboratoriais, a uréia (Tab. 2) esteve aumentada nos momentos M1 e M2 dos grupos G2 e G3 e a creatinina (Tab. 2) nos momentos M2 e M3, em relação ao grupo controle (G1), o que sugere a ação nefrotóxica do veneno, ou pela hipovolemia que ocorre nos acidentes botrópicos [5, 7,16]. A creatinoquinase, enzima marcadora de lesões musculares esteve aumentada nos momentos M1 e M2 dos grupos com tratamento com soroterapia (G2) e no grupo que recebeu soroterapia e Mikania glomerata (G3) o que concorda com os achados da literatura. [8]

Houve uma queda no número de hemácias (Tab. 2), volume globular (Tab. 2) e hemoglobina (Tab. 2) concordando com os achados de Takahira.[25] A proteína plasmática total (PPT) (Tab. 3) esteve diminuída nos grupos que receberam o veneno botrópico, concordando com alguns autores,[11,24] mas não houve diferença entre os tratamentos. Houve uma leucocitose (Tab. 3) com neutrófilia (Tab. 3) e

diminuição do linfócitos (Tab. 3) nos grupos intoxicados com o veneno botrópico, o que também foi observado por outros autores.[17,18,19] Não houve alteração nos níveis de fibrinogênio (Tab. 3)

O veneno botrópico causou lesões em musculatura do local da inoculação e também em rins, na musculatura (Tab. 4) foram observados degeneração, necrose de coagulação, edema, congestão e hemorragia.[13,25,26] Os animais que receberam o tratamento com o extrato de Mikania glomerata não apresentaram hemorragia e uma redução na formação de edema e na congestão, além de apresentarem um grau leve de regeneração de fibra, concordando assim com alguns autores que observaram a ação antiofídica da planta Mikania glomerata.[12,23]

Nos rins (Tab. 4), foram observadas degeneração hidrópica renal, necrose tubular aguda, hemorragia e congestão concordando com achados na literatura.[13,25] A Mikania glomerata não foi eficaz na proteção contra as lesões renais observadas.

CONCLUSÕES

Conclui-se que o veneno botrópico causa alterações clinica, laboratorial e histopatológicas em ratos, sendo a principal alteração clinica foi a presença de edema no membro onde foi inoculado experimentalmente o veneno. O tratamento complementar com o extrato da planta Mikania glomerata teve mais influencia contra os efeitos deletérios do veneno da serpente Bothrops sobre a musculatura. São necessários novos estudos com o extrato de Mikania glomerata para que possa entender a ação da planta sobre o veneno botrópico e também qual a melhor via para administra-lo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGOSTINI UTESCHER, C.L.; VIEIRA, S.L.P.; FENSTERSEIFER, S.; RIBEIRO, L.A.; JORGE, M.T. Avaliação da eficácia do Antiveneno Botrópico Administrado no Local da Inoculação Intramuscular do Veneno de Bothrops jararaca: Estudo Experimental em Camundongos. Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo, v. 36(3), p.275–278, 1994.
2. ARAÚJO, P.; BELLUOMINI, H.E. Toxicidade de venenos ofídicos. I. Sensibilidade específica de animais domésticos e de laboratório. Memórias do Instituto. Butantan (São Paulo), v.30, p.143-156, 1960-62.
3. AZEVEDO-MARQUES, M.M.; CUPO, P.; HERING, S.E. Acidentes por animais peçonhentos: serpentes peçonhentas. Medicina. v.36, p.480-489, 2003.

4. BARRAVIERA, B. Acidentes por serpentes do gênero Crotalus. Arquivo Brasileiro de Medicina, v.64, p.14-20, 1990.

5. BOER-LIMA, P.A., GONTIJO, J.R., CRUZ-HÖFLING, M.A. Histologic and Functional Renal Alterations caused by Bothrops moojeni snake venom in rats. American Journal Tropical Medicine and Hygiene. v. 61(5), p. 698-706, 1999.

6. BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de Vigilância Epidemiológica. 6ª edição. Brasília: Ministério da Saúde; 2005. 816p.

7. BURDMANN, E.A.; WORONIK, V.; PRADO, E.B.A.; ABDULKADER, R.C.; SALDANHA, L.B.; BARRETO, O.C.O.; MARCONDES, M. Snake-bite induced acute renal failure: an experimental model. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene jan;48(1) p. 82-8, 1993.

8. CALIL-ELIAS, S.; THATTASSERY, E.; MARTINEZ, A.M.B.; 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. v.35, n.10, p.1233-1235, 2002.

9. CASTRO, I. Estudo da toxicidade das peçonhas crotálicas e botrópicas, no acidente ofídico, com ênfase a toxicidade renal. O Mundo Da Saúde. v. 30(4), p. 644-653, 2006.

10. CORRÊA, M.P. Dicionário de Plantas Úteis do Brasil, 1984, Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, Brasilia, DF, v. 5 687p.

11. FERREIRA JUNIOR, R.S.; BARRAVIERA, B. Management of venomous snakebites in dogs and cats in Brazil. J. anim. Toxins incl. Trop. Dis. v. 10, n.2, 2004.

12. MAIORANO, V.A.; MARCUSSI, S.; DAHER, M.A.F.; OLIVEIRA, C.Z.; COUTO, L.B.; GOMESD, O.A.; FRANÇA, S.C.; SOARES, A.M.; PEREIRA, P.S. Antiophidian properties of the aqueous extract of Mikania glomerata. Journal of Ethnopharmacology. v.102, p.364–370, 2005.

13. MOTTA, Y.P.; SAKATE, M.; NOGUEIRA, R.M.B.; SANCHES, O.C.; SANGIORGIO, F.; FUKUI, R.; DAVID, H.; Avaliação histopatólogicas do rim e da musculatura em ratos wistar intoxcados experimentalmente com venenos botrópico e crotálico. In: XV Congresso Brasileiro

de Toxicologia, 2007, Búzios. Revista Brasileira de Toxicologia (Brazilian Journal of Toxicology). São Paulo: Sociedade Brasileira de Toxicologia, 2007. v.20. p.87 – 87

14. PEREIRA, N. A.; PEREIRA, B. M. R.; NASCIMENTO, M. C.; PARENTE, J. P.; MORS, W. B. Pharmacological screening of plants recommended by folk medicine as anti-snake venom. IV. Proction against jararaca venom by isolated constituints. Planta Med. v.60, p.99-100, 1994.

15. PEREZ, O.A.; MARUÑAK, S.; RUIZ, R.; KOSCINCZUK, P.; TEIBLER, P. Hemorrhage induced by snake venoms in Argentina. Acta Physiol. Pharmacol. Ther. Lat. Am., v.47, n.4, p.221-224, 1997.

16. PINHO, F.M.O.; PEREIRA, I.D. Ofidismo. Rev. Assoc. Méd. Bras., v.47, n.1, p. 2-13, 2001.

17. SANO-MARTINS, I.S., SANTORO, M.L., MORENA, P.; SOUSA-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, v.28, p.303-312, 1995.

18. SANTORO, ML., SANO-MARTINS, IS., FAN, HW., CARDOSO, JLC., THEAKSTON, RDG, DAVID A., WARRELL, D.A. Haematological evaluation of patients bitten by the jararaca, Bothrops jararaca, in Brazil, Toxicon, v.51, p.1440-1448, 2008.

19. SANTOS, M.M.B.; MELO, M.M.; JACOME, D.O.; FERREIRA, K.M.; SABAINI, R.M. Hemograma de cães envenenados experimentalmente com Bothrops alternatus após diferentes tratamentos. Ver. Bras. Saúde Prod. An., v.4, n.1, p.1-11, 2003.

20. SANTOS-SOARES, P.C.; BACELLAR, A.; POVOAS, H.P.; BRITO, A.F.; SANTAN, D.L.P. Stroke and snakebite:Case report. Arq. Neuropsiquiatr. v.65, n.2-A, p.341-344, 2007.

21. SILVIA, V.M.; MORIJA, G.M.; MOREIRA, W.M.Q; FONSECA, M.G. Atividade local e sistêmica do veneno de Bothrops altenatus (Duméril, Bibron & Duméril, 1854) em estudo experimental. Revista Fafibe on-line/Faculdade. n.2, 2006. Disponível em: <www.fafibe.br/revistaonline/arquivos/mariluce_venenosserpentes.pdf>. Acesso em: 17 jul. 2007.

22. SOARES, A.M., JANU´ARIO, A.H., LOURENCO, M.V., PEREIRA, A.M.S., PEREIRA, P.S., Neutralizing effects of Brazilian plants against snake venoms. Drugs of the Future 29, 1105–1117.SOERENSEN, B. Animais peçonhentos. São Paulo: Atheneu, 1990. 138p, 2004.

23. SOARES A.M., TICLI F.K., MARCUSSI S., LOURENCO M.V., JANUARIO A.H., SAMPAIO S.V., GIGLIO J.R., LOMONTE B., PEREIRA P.S. Medicinal Plants with inhibitory properties against snake venoms. Current Medicinal Chemistry, v. 12 .p. 2625-41, 2005.

24. TAKAHIRA, R.K. Alterações hemostáticas, hematológicas e bioquímicas de cães no envenenamento experimental por Bothrops jararaca (Wied, 1824) e Bothrops neuwiedi Wangler, 1824. 1996. 143f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

25. TAKAHIRA, R.K. Perfil hematológico, hemostático, bioquímico e histopatólogico do envenenamento experimental de cães por Bothrops alternatus Duméril, 1854 e Bothrops moojeni Hoge, 1966. 1999. 195f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

26. TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V. A importância dos acidentes ofídicos como causa de mortes em bovinos no Brasil. Pesquisa Veterinária. Brasileira. v.26, n.2 p.55-68, 2006.

27. UNOESTE. Valores de referência para ratos Wistar criados no Biotério central da Universidade do Oeste Paulista. Presidente Prudente: Biotério Central da Universidade do Oeste Paulista, 2008. E-mail.

RESUMO

Com a finalidade de encontrar tratamentos complementares ou alternativos para os casos de acidentes botrópicos, foi estudada a eficiência do uso de Mikania glomerata com soro antiofídico. Assim, os ratos Wistar foram divididos em três grupos: G1 (controle), G2 (veneno + soro antiofídico) e G3 (veneno + soro antiofídico + extrato aquoso de Mikania glomerata). O veneno de Bothrops jararaca (10mg/kg) foi inoculado por via subcutânea, na face lateral da coxa do membro posterior esquerdo. As avaliações clínicas, hematológicas e bioquímicas sérica foram feitas em três momentos: (M1) 30 minutos após inoculação, (M2) 6 horas após inoculação e (M3) 24 horas após inoculação, e o exame histopatológico realizou-se só no momento M3. Os animais apresentaram hipotermia após 6 horas da inoculação do

veneno e também uma pequena diminuição na freqüência respiratória, que se manteve dentro dos valores de referência para espécie. Houve edema marcante no membro esquerdo após a inoculação, em comparação com os animais do grupo controle. 3 animais de cada grupo (G2 e G3) no momento M2 apresentaram incoagulabilidade sangüínea. Houve uma queda do volume globular, número de hemácias, hemoglobina e TPP além de leucocitose com aumento de neutrófilos e diminuição de linfócitos nos grupos G2 e G3. Houve um aumento da creatinoquinase, uréia e creatinina após a inoculação. As lesões observadas na histopatologia foram: degeneração, edema, congestão e hemorragia renais e musculares, necrose de coagulação, degeneração hidrópica renal e necrose tubular aguda. O extrato de Mikania glomerata apresentou, como principal ação, a redução ou prevenção de lesões musculares provocadas por veneno botrópico.

Unitermos: Bothrops jararaca; Mikania glomerata; Ratos Wistar; Intoxicação experimental; histopatólogia

SUMMARY

In order to find additional treatments or alternative for cases of Bothrops accidents, we studied the efficiency of the use of Mikania glomerata with antiophidian serum. Thus, the rats were divided into three groups: G1 (control), G2 (venom + antivenin), G3 (venom + antivenin + extract of Mikania glomerata). The venom of Bothrops jararaca (10mg/kg) was inoculated subcutaneously, on a lateral face of the left posterior limb. The clinical and laboratory evaluations in 3 moments: (M1) 30 minutes after inoculation, (M2) 6 hours after inoculation and (M3) 24 hours after inoculation. Histopathology examination was performed just in M3 group. The animals had hypothermia after 6 hours of inoculation of the venom and also a small decrease in respiratory rate, which remained within the reference values for species. There was great in edema member left after inoculation, compared with the control group. 3 animals from each group (G2 and G3) at M2 showed incoagulability blood. There was decrease in red blood cell counts, hemoglobin, total plasma protein (TPP) and packed cell volume (PCV), besides leukocytosis with increase of neutrophils, decrese of lymphocytes in groups G2 and G3. There was

increase of creatine kinase, urea and creatinine after inoculation. The lesions observed in histopathology were: degeneration, edema, congestion and hemorrhage kidney and muscle, necrosis of clotting, kidney degeneration hydropic and acute tubular necrosis. The extract of Mikania glomerata presented, as the main action, the reduction or prevention of muscle injuries caused by Bothrops poison botrópico.

Uniterms: Bothrops jararaca; Mikania glomerata; Wistar rats; experimental intoxication; histopathology

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão da temperatura, freqüências respiratória e cardíaca e edema de membro direito e esquerdo segundo grupos e momentos de avaliação. Botucatu, 2008.

Grupos e Momentos	Temperatura (°C)	Freqüência respiratória (mpm)	Freqüência cardíaca (bpm)	Edema de membro direito (cm)	Edema de membro esquerdo (cm)
G1 M1	37,13 Aa ±0,1966	104,33 Aa ±17,363	218,00 Aa ±11,24	0,67 Ba ±0,08165	0,77 Ba ±0,1033
G1 M2	37,17 Aba ±0,3141	101,67 Aa±17,546	218,67 Aa ± 13,06	0,77 Aa ±0,08165	0,88 Ba ±0,1602
G1 M3	36,583 Aa ±0,7859	114,67 Aa ±24,606	200,33 Aa ±14,33	0,68 Ba ±0,07528	0,77 Ba ±0,08165
G2 M1	37,267 Aa ±1,335	89,83 Aa ±30,162	178,00 Aa ±30,85	1,00 Aa ±0	1,83 Aa ±0,1033
G2 M2	35,733 BCa ±0,9026	81,83 Aa ±16,473	202,67 Aa ±28,91	0,75 Ab ±0,1517	1,45 Ab ±0,2588
G2 M3	37,967 Aa ±2,302	110,33 Aa ±22,571	154,33 Aa ±63,65	0,88 AB ab ±0,07	1,48 Ab ±0,1835
G3 M1	36,583 Aab ±1,425	100,67 Aa ±10,482	198,67 Aa ±24,35	0.9333 Aa ±0,1506	1,667 Aa ±0,1033
G3 M2	34,967 Cb ±1,260	96,00 Aa ±11,866	216,33 Aa ±9,33	0,82 Aa ±0,07528	1,47 Ab ±0,05
G3 M3	37,817 Aa±0,6676	117,67 Aa ±14,882	202,00 Aa ±12,83	0,95 Aa ±0,2168	1,63 Aab ±0,16

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (p>0,05). G1 (Controle), G2 (Veneno + Soro antiofídico) eG3 (Veneno + Soro antiofídico + Mikania glomerata).

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão da uréia, creatinina, creatinoquinase (CK), número de hemácias, hemoglobina e volume globular (VG) segundo grupos e momentos de avaliação. Botucatu, 2008.

Grupos e Momentos	Uréia	Creatinina	CK	N° de hemácias	Hemoglobina	VG
G1 M1	39,90 Ba ±15,599	0,59 Aa ±0,05	38,9 Ba ±24,02	8.111.666,67 Ba ±469.656	14,58 Ca ±0,23	43,50 Ba ±1,04
G1 M2	44,90 Ba ±11,72	0,57 Ba ±0,04	60,5 Ba ±36,65	6.930.000,00 ABb ±386.057	13,95 Aa ±0,60	42,17 Aa ±1,32
G1 M3	47,68 Aa ±1,85	0,46 Bb ±0,05	68,05 Aa ±33,42	6.890.000,00 Ab ±261.304	14,25 Aa ±0,42	42,50 Aa ±0,54
G2 M1	50,15 Ab ±8,81	0,69 Aa ±0,13	168,97 Aa ±101,86	9.048.333,33 ABa ±900.298	16,75 Ba ±0,79	49,83 Aa ±1,32
G2 M2	100,00 Aa ±23,56	0,76 Aa ±0,12	80,30 Aab ±9,51	6.496.666,67 Bb ±583.461	13,87 Ab ±1,51	41,00 Ab ±5,47
G2 M3	85,93 Aa ±57,93	0,77 Aa ±0,14	30,53 Ab ±10,85	5.826.000,00 Ab ±838.037	11,78 Bc ±1,25	36,00 Ab ±3,98
G3 M1	66,417 Aa±9,1	0,71 Aa ±0,07	190,00 Aa ±70,89	9.936.667 Aa ±628.511	19,083 Aa ±0,5879	53,83 Aa ±1,83
G3 M2	132,2 Aa ±54,39[a]	0,93 Aa ±0,36	267,87 Aa ± 122,51	8.108.333,33 Ab ±508.937	15,35 Ab ±1,22	45,67 Ab ±3,20
G3 M3	98,76 Aa ±88,77	0,74 Aa ±0,09	25,18 Ab ± 17,13	6.930.000,00 Ab ±1.306.782	13,12 ABb ±2,36	39,33 Ab ±7,55

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (p>0,05). G1 (Controle), G2 (Veneno + Soro antiofídico) eG3 (Veneno + Soro antiofídico + Mikania glomerata).

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão do fibrinogênio, leucócitos, neutrófilos, linfócitos e proteína plasmática total (PPT) segundo grupos e momentos de avaliação. Botucatu, 2008.

Grupos e Momentos	Fibrinogênio	Leucócitos	Neutrófilos	Linfócitos	PPT
G1 M1	300,00 Aa ±109,54	5.640,00 Ba ±879,20	2.294,17 Ba ±548,48	2.565,50 Ba ±490,40	6,40 Ab ±0,12
G1 M2	233,33 Aa ±81,65	4.236,90 Ba ±1.992,30	1.783,67 Ca ±380,08	3.072,50 Aa ±574,40	6,10 Ab ±0,27
G1 M3	266,67 Aa ±103,28	5.200,00 Aa ±946,04	2.013,00 ABa ±205,83	2.730,50 Aa ±871,64	6,90 Aa ±0,20
G2 M1	266,67 Aa ±103,28	16.600,00 Aa ±6.753,10	6.832,33 Aa ±1.900,2	8.693,00 Aa ±5.184,20	4,93 Ba ±0,3
G2 M2	266,67 Aa ±103,28	10.750,00 Aab ±3.320,10	6.221,67 Ba ±3.673,6	2.927,00 Ab ±1.065,5	4,87 Ba ±0,24
G2 M3	266,67 Aa ±103,28	8.466,70 Ab ±4.264,60	2.051,70 Bb ±1.841,80	5.359,80 Aab ± 2.503,10	5,03 Ba ±0,46
G3 M1	350,00 Aa ±83,66	11.133,00 Ab ±1.869,40	4.947,3 Ab ±1.568,3	5.499,5 Aa ±943,28	6,3 Aa ±0,45
G3 M2	300,00 Aa ±109,54	17.566,67 Aa 5.477,80	12.191,00 Aa ±4.404,4	4.200,17 Aa ±1.287,80	5,43 Bb ±0,34
G3 M3	300,00 Aa ±109,54	8.166,67 Ab ±4.322,00	4.703,83 Ab ±2.801,7	2.434,33 Ab ±1.012,10	5,23 Bb ±0,42

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos

seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (p>0,05). G1 (Controle), G2 (Veneno + Soro antiofídico) eG3 (Veneno + Soro antiofídico + *Mikania glomerata*

Tabela 4. Número de animais que apresentaram lesões histológicas na musculatura e nos rins no momento M3, em ratos inoculados com veneno da serpente *Bothrops jararaca*. Botucatu, 2008. (Escores: 1 - discreta, 2 – moderada e 3 – acentuada).

Escores → / Lesão ↓	1	2	3	Grupos
	N° de animais			
Degeneração	2	0	0	G1
	0	0	6	G2
	0	0	6	G3
Necrose de coagulação	2	0	0	G1
	0	0	6	G2
	0	0	6	G3
Regeneração de fibra	0	0	0	G1
	0	0	0	G2
	6	0	0	G3
Edema	6	0	0	G1
	0	0	6	G2
	0	6	0	G3
Congestão	3	0	0	G1
	0	6	0	G2
	6	0	0	G3
Hemorragia	0	0	0	G1
	0	0	6	G2
	0	0	0	G3
Degeneração hidrópica renal	5	1	0	G1
	0	4	2	G2
	0	0	6	G3
Necrose tubular aguda	3	0	0	G1
	3	1	2	G2
	0	0	6	G3
Congestão	4	0	0	G1
	0	6	0	G2
	0	2	4	G3
Hemorragia	0	0	0	G1
	1	2	3	G2
	0	0	6	G3

G1 (Controle), G2 (Veneno + Soro antiofídico) e G3 (Veneno + Soro antiofídico + *Mikania glomerata*).
Número total de animais submetidos a histopatologia = 6.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR VENENO DA SERPENTE *Crotalus durissus terrificus* EM RATOS WISTAR: AVALIAÇÃO CLINICA, LABORATORIAL E HISTOPATOLÓGICA E TRATAMENTO COM SORO ANTIOFÍDICO E *Mikania glomerata*.

Experimental poisoning by snake venom of *Crotalus durissus terrificus* in Wistar rats: clinical, laboratory and pathology evaluation and treatment with antiophidian serum and *Mikania glomerata*.

AUTORES:

Yudney Pereira da Motta

Michiko Sakate*

Rosa Maria Barilli Nogueira

Rafael Stuani Floriano

Fabíola Sangiorgio

Cecília Braga Laposy

Osimar Sanches

João Marcelo Nabas

Heloisa Costa David

INSTITUIÇÃO:

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus Botucatu

* Prof. Ass. Dra. Michiko Sakate
Universidade Estadual Paulista – UNESP/ Botucatu
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) - Departamento de Clínica Veterinária
Distrito Rubião Júnior, sem número. Botucatu-SP. CEP: 18618-000
e-mail: michikos@fmvz.unesp.br

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR VENENO DA SERPENTE *Crotalus durissus terrificus* EM RATOS WISTAR: AVALIAÇÃO CLINICA, LABORATORIAL E HISTOPATOLÓGICA E TRATAMENTO COM SORO ANTIOFÍDICO E *Mikania glomerata*.

Experimental poisoning by snake venom of *Crotalus durissus terrificus* in Wistar rats: clinical, laboratory and pathology evaluation and treatment with antiophidian serum and *Mikania glomerata*.

INTRODUÇÃO

Os acidentes por animais peçonhentos constituem, em muitas partes do mundo, especialmente nas áreas rurais de países tropicais e subtropicais, problema de ordens médica, social e econômica[3].

Dos quatro gêneros de serpentes peçonhentas, verifica-se o predomínio do acidente botrópico, que corresponde a 87,5% do total de ofidismo notificado no país, seguidos pelo crotálico (9,2%), laquético (2,7%) e elapídico (0,6%), com pequenas variações de acordo com a região e a distribuição geográficas das serpentes. [6]

As serpentes do gênero *Crotalus* são consideradas de grande importância tanto para seres humanos como em animais devido à gravidade do quadro clínico que causam, e na maioria das vezes fatal quando o tratamento com soro específico não é instituído precocemente. [3]

Os acidentes ofídicos requerem cuidados médicos urgentes. Atualmente, o único tratamento cientificamente validado é a soroterapia.[9] Mesmo sendo o tratamento recomendado, ainda apresenta algumas desvantagens, como: (1) limitado ou nenhum acesso ao soro antiofídico na zona rural, de países em desenvolvimento, onde a maioria dos acidentes acontece; (2) variações significantes na composição do veneno e reatividade antigênica devido às diversidades de serpentes que podem causar limitações durante a soroterapia; (3) possibilidade de ocorrência de reações adversas em pacientes devido à infusão de proteínas animais; e (4) efetividade limitada da soroterapia para proteger os efeitos prejudiciais no local da picada. Assim, a procura contínua e identificação de novas combinações que possam ser úteis como terapia alternativa ou complementar na intoxicação por veneno de serpente é uma tarefa pertinente.[20]

A planta *Mikania glomerata*, da família Asteraceae, encontrada na Mata Atlântica brasileira e popularmente conhecida como “Guaco” de acordo com a tradição popular, além do tratamento de tosse e bronquite, é também usada como antídoto contra veneno de certas serpentes e escorpiões.[10] Extrato

vegetal constitui uma alternativa para tratamento de ofidismo, já que um número grande de extratos mostrou boas atividades antivenenos.[8,11,19,20]

A alta incidência de casos de acidentes ofídicos, as desvantagens do uso da soroterapia como o único tratamento contra os acidentes ofídicos, a existência de poucos trabalhos sobre o efeito do tratamento de intoxicações ofídicas com a planta Mikania glomerata em relação a aspectos clínicos, laboratoriais e histopatólogios em ratos Wistar e sobre os estudo das ações do veneno botrópico e crotálico em relação a aspectos clínicos, laboratoriais e histopatológicos em ratos Wistar, sustentam a proposta do presente estudo em avaliar as alterações dos aspectos clínicos, laboratoriais e histopatológicos da intoxicação experimental pelos veneno da serpente Crotalus durissus terrificus em ratos Wistar e tratados com soro antiofídico e extrato de Mikania glomerata.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ratos Wistar, fêmeas, de 2 meses de idade e peso corporal entre 230 e 300 gramas. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas no biotério de experimentação, em ambiente com controle de luz (ciclos de 12 horas) e temperatura constante (25ºC), umidade do ar de 55-65%, tempo de exaustão de 10 trocas de ar da sala/hora, recebendo dieta padrão para animais de laboratório (Purina®) e água ad libitum. Os animais foram divididos em 3 grupos (G) experimentais: G1- controle; G2- inoculação de 10 mg/kg de veneno crotálico + soro antiofídico (Vencofarma®) na dose recomendada pelo fabricante para neutralizar a quantidade inoculada em cada rato e o G3- inoculação de 10 mg/kg de veneno crotálico + soro antiofídico (Vencofarma®) na dose recomendada pelo fabricante para neutralizar a quantidade inoculada em cada rato + extrato de Mikania glomerata 10% no volume de 1 mL, no intervalo de 2 horas, com três repetições após a inoculação do veneno. Cada grupo foi avaliado em três momentos: M1 30 minutos após a inoculação do veneno, M2 6 horas após a inoculação do veneno e M3 24 horas após a inoculação do veneno. Para cada momento foram avaliados: temperatura retal (°C), freqüências respiratória (mpm) e cardíaca (bpm), edema de membro direito e esquerdo (cm), grau de sedação, locomoção, presença de coagulação, uréia, creatinina, creatinoquinase, número de hemácias, neutrófilos, linfócitos, leucócitos, hemoglobina e volume globular. A histopatologia do rim e da musculatura no local onde foi inoculado o veneno foi realizada no M3. O extrato de Mikania glomerata foi administrado por via intragástrica (gavage). O veneno foi inoculado no membro esquerdo, na região

de terço médio da face lateral da coxa. Os animais foram submetidos à eutanásia no final de cada momento e para tal procedimento foi utilizado pentobarbital, na dose de 150mg/kg por via intraperitoneal. O sangue dos animais foi coletado por punção intracardíaca, uma única vez e os materiais coletados para histopatológico foram fixados com formol a 10%. e posteriormente corados em hematoxilina e eosina (HE).

O eritrograma consistiu da contagem total de eritrócitos em contador eletrônico de células (CELM – CC-530) e determinação do volume globular pelo método de microhematócrito (Micro EULAB – Modelo 024). O cálculo dos índices hematimétricos foi realizado segundo Jain (1993), a proteína plasmática total foi determinada por refratometria (AST – Japan) e a dosagem do fibrinogênio plasmático foi feita de acordo com a técnica de precipitação pelo calor. A contagem total de leucócitos foi realizada em contador automático de células, e a contagem diferencial de leucócitos foi realizada em 100 células em esfregaços corados com Diff Quick [4] (Jain, 1986). As amostras de soro para realização dos exames bioquímicos foram obtidas por centrifugação do sangue. As amostras foram mensuradas para: uréia pelo método da uréase (Uréia – Kit Labest- Lagoa Santa - MG), creatinina pelo método cinético de tempo fixo utilizando picrato alcalino (Creatinina –Kit Bioclin- Belo Horizonte-MG) e CK pelo método Okinaka modificado (CK – Kit Doles – Goiânia – GO).

As amostras colhidas, para histopatologia, foram fixadas em solução de formalina tamponada a 10%, e em seguida, clivadas e submetidas a processamento histológico de rotina para inclusão em parafina e cortes em micrótomo rotativo a 5μ. Os cortes foram corados pela hematoxilina-eosina (HE) e examinados à microscopia óptica. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais que receberam o veneno crotálico apresentaram hipotermia 6 horas após a inoculação do veneno e não houve diferença entre os tratamentos (Tab. 1) e isto pode estar relacionada ao quadro de choque que se instala devido à liberação de agentes vasoativos durante a anafilaxia. A síndrome determina distúrbio circulatório caracterizado por hipotensão arterial ou artério-venosa, comprometendo a perfusão tecidual, a hipotermia também foi observada por outros autores.[13,14,15] Não houve alterações significantes em relação.a freqüências cardíaca e respiratória (Tab. 1) discordando de achados de alguns autores que observaram diminuição da freqüências cardíaca e respiratória.[10,14,16,21] O edema de membro

posterior direito (Tab. 1), membro que não recebeu veneno, esteve presente, em alguns momentos, nos dois grupos que receberam a inoculação do veneno crotálico, concordando assim com Salvini et al.[17] que observaram ação sistêmica do veneno crotálico. O membro que recebeu a inoculação do veneno crotálico mostrou diferença estatística ($p<0,05$) (Tab. 1) em relação ao mesmo membro do grupo controle, o que esta de acordo com alguns autores que relatam e observaram edema discreto no acidente crotálico.[5,15] No momento M2 do grupo G3, o valo médio não foi estatisticamente diferente do grupo G1, o que pode relacionar a ação anti-edema da Mikania glomerata observada por Maiorano et al.[11]

Todos os animais, no momento M2 dos grupos que receberam o veneno crotálico, apresentaram grau de sedação moderado o que concorda com a literatura sobre a ação neurotóxica do veneno crotálico,[1,2,4,14,18] e no momento M3, apenas no grupo G2, todos os animais apresentaram grau de sedação moderado e no grupo G3 nenhum animal apresentou, o que concorda com Maiorano et al.[11] que observaram ação anti-fosfolipase A2 do extrato de Mikania glomerata. Não foi observada a incoagulabilidade nos animais como é relatada na literatura em outras espécies,[10,14,16] isto pode ser devido à resistência observada, por Araújo & Belluomini, [1] do rato ao veneno crotálico.

Nos exames laboratoriais, a uréia (Tab. 2) esteve aumentada nos momentos M1 e M2 dos grupos G2 e G3 e a creatinina (Tab. 2) no momento M2 e M3, em relação ao grupo controle (G1), o que pode estar relacionado com a ação nefrotóxica do veneno crotálico.[7] A creatinoquinase, enzima marcadora de lesão musculares esteve aumentada nos momentos M1 e M2 dos grupos G1 e G2, o que concorda com a literatura onde o veneno crotálico tem uma grande ação miotóxica sobre as fibras musculares.[2,9,14] Não houve diminuição do número de hemácias (Tab. 2), volume globular (Tab. 2), hemoglobina (Tab. 2), proteína plasmática total (PPT) (Tab. 3) e fibrinogênio (Tab. 3) após a inoculação experimental do veneno crotálico, discordando dos achados hematológicos de Nogueira et al.[14] e Nogueira & Sakate[13] que observaram diminuição do número de hemácias, VG, hemoglobina e fibrinogênio.[22] Houve uma leucocitose (Tab. 3) com um aumento de neutrófilo (Tab. 2) e diminuição do linfócitos (Tab. 2) nos grupos intoxicados com o veneno crotálico concordando com achados na literatura.[14]

A inoculação do veneno da serpente Crotalus durissus terrificus causou lesões em musculatura do local da inoculação e também em rins, na musculatura (Tab. 4) foram observados degeneração, necrose de coagulação, edema, congestão e hemorragia concordando com os achados na literatura.[12,14,22] Os animais que receberam o tratamento com o extrato de Mikania glomerata não apresentaram hemorragia e houve uma redução na gravidade da degeneração, necrose de coagulação, concordando assim com alguns

autores que observaram a ação antiofídica da planta Mikania glomerata[11,19,20]. Nos rins (Tab. 4) foram observadas degeneração hidrópica renal, necrose tubular aguda, hemorragia e congestão concordando com achados na literatura.[12,22] No grupo G3 não houve presença de hemorragia, o que concorda com Maiorano et al.[11] que observaram a ação anti-hemorrágica do extrato in vitro.

CONCLUSÕES

Conclui-se que o veneno crotálico causa alterações clinica, laboratorial e histopatológicas em ratos, sendo as principais alterações clinicas são: o edema de membro onde foi inoculado experimentalmente o veneno e a sedação dos animais após inoculação do veneno, há melhora com o tratamento complementar com o extrato de Mikania glomerata. Pode se observar a alteração da creatinoquinase, um importante marcador da lesão muscular, assim comprova a ação miotóxica do veneno crotálico. Na histopatologia foi observada a ação eficiente do extrato sobre as lesões provocadas pelo veneno. A Mikania glomerata tem um bom efeito na inibição das lesões causadas pela ação da fosfolipase A2. São necessários novos estudos com o extrato de Mikania glomerata para que possa entender melhor a ação da planta sobre o veneno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARAÚJO, P.; BELLUOMINI, H.E. Toxicidade de venenos ofídicos. I. Sensibilidade específica de animais domésticos e de laboratório. Memórias do Instituto Butantan (São Paulo), v.30, p.143-156, 1960-62.
2. AZEVEDO MARQUES, M.M.; CUPO, P.; COIMBRA, T.M.; HERING, S.E.; ROSSI, M.A.; LAURE, C.J. Myonecrosis, myoglobinuria and acute renal failure induced by South American rattlesnake (Crotalus durissus terrificus) envenomation in Brazil. Toxicon, v.23, p.631-636, 1985.
3. BARRAVIERA, B. Acidentes por serpentes do gênero Crotalus. Arquivo brasileiro de medicina, v.64, p.14-20, 1990.
4. BARRAVIERA, B. Acidentes por serpentes dos gêneros "Crotalus" e "Micrurus" In: __. Venenos Animais: uma visão integrada. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1994. p.281-295.

5. COLLICCHIO, R.C.; SAKATE, M.; BALARIN, M.R.S.; HAKATA, A.; KLEIN, R.P.; VIANA, L.; NOGUEIRA, F.S. Relato de caso: Alterações clínicas e laboratoriais conseqüentes à picada de cascavel (Crotalus durissus terrificus) em uma cadela gestante. Clínica. Veterinaria., n.40, p.45-48, 2002.

6. BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de Vigilância Epidemiológica. 6ª edição. Brasília: Ministério da Saúde; 2005. 816p.

7. CASTRO, I. Estudo da toxicidade das peçonhas crotálicas e botrópicas, no acidente ofídico, com ênfase a toxicidade renal. O Mundo Da Saúde. v. 30(4), p. 644-653, 2006.

8. CORRÊA, M.P. Dicionário de Plantas Úteis do Brasil, 1984, Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, Brasilia, DF, v. 5 687p.

9. FERREIRA JUNIOR, R.S.; BARRAVIERA, B. Management of venomous snakebites in dogs and cats in Brazil. J. anim. Toxins incl. Trop. Dis. v. 10, n.2, 2004.

10. JORGE, M.T.; RIBEIRO, L.A. Epidemiologia e quadro clinico do acidente por cascavel sul-americana (Crotalus durissus). Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, v.34, n.4, p.347-354, 1992.

11. MAIORANO, V.A.; MARCUSSI, S.; DAHER, M.A.F.; OLIVEIRA, C.Z.; COUTO, L.B.; GOMESD, O.A.; FRANÇA, S.C.; SOARES, A.M.; PEREIRA, P.S. Antiophidian properties of the aqueous extract of Mikania glomerata. Journal of Ethnopharmacology. v.102, p.364–370, 2005.

12. MOTTA, Y.P.; SAKATE, M.; NOGUEIRA, R.M.B.; SANCHES, O.C.; SANGIORGIO, F.; FUKUI, R.; DAVID, H.; Avaliação histopatólogicas do rim e da musculatura em ratos wistar intoxcados experimentalmente com venenos botrópico e crotálico. In: XV Congresso Brasileiro de Toxicologia, 2007, Búzios. Revista Brasileira de Toxicologia (Brazilian Journal of Toxicology). São Paulo: Sociedade Brasileira de Toxicologia, 2007. v.20. p.87 – 87

13. NOGUEIRA, R.M.B., SAKATE, M. Clinical and Hematological Alterations in Dogs During Experimental Envenomation with Crotalus durissus terrificus Venom and Treated with Antiophidic Serum. J. Anim. Toxins incl. Trop. Dis. v. 12(2), p. 285 – 96, 2006.

14. NOGUEIRA, R.M.B.; SAKATE, M.; SANGIORGIO, F.; LAPOSY, C.B.; MELERO, M. Experimental envenomation with Crotalus durissus terrificus venom in dogs treated with

antiophidic serum-Part I: clinical evaluation, hematology and myelogram. J. venom. Anim. Toxins. v.13, n.4, p.800-810, 2007.

15. RAISER, A.G. Choque. In: ANDRADE, S.F. Manual de Terapêutica Veterinária. 2.ed., São Paulo: Roca. 2002. p.504-521.

16. RIBEIRO, L.A.; ALBUQUERQUE, M.J.; PIRES DE CAMPOS, V.A.F.; KATZ, G.; TAKAOKA, N.Y.; LEBRÃO, M.L.; JORGE, M.T. Óbitos por serpentes peçonhentas no Estado de São Paulo: avaliação de 43 casos, 1988/93. Rev. Assoc. Med. Bras., v.44, n.4, p.312-318, 1998.

17. SALVINI, T.F., AMARAL, A.C., MIYABARA, E.H., TURRI, J.A.O., DANELLA, P.M., SELISTRE DE ARAÚJO, H.S. Systemic Skeletal Muscle Necrosis Induced by Crotoxin. Toxicon. v. 39, p. 1141-49, 2001

18. SANGIORGIO, F.; SAKATE, M.; NOGUEIRA, R.M.B.; TOSTES, R.A. Histopathology evaluation in experimental envenomation of dogs with Crotalus durissus terrificus venom. J. venom. Anim. Toxins. v.14, n.1 p.82-99, 2008.

19. SOARES, A.M., JANU´ARIO, A.H., LOURENCO, M.V., PEREIRA, A.M.S., PEREIRA, P.S., Neutralizing effects of Brazilian plants against snake venoms. Drugs of the Future 29, 1105–1117.SOERENSEN, B. Animais peçonhentos. São Paulo: Atheneu, 1990. 138p, 2004.

20. SOARES A.M., TICLI F.K., MARCUSSI S., LOURENCO M.V., JANUARIO A.H., SAMPAIO S.V., GIGLIO J.R., LOMONTE B., PEREIRA P.S. Medicinal Plants with inhibitory properties against snake venoms. Current Medicinal Chemistry, v. 12 .p. 2625-41, 2005.

21. SOERENSEN, B.; NETO, L.Z.; OLIVEIRA, A.M.; SANTOS, R.V.; MESSIAS, C.V. Aspecto clínico e laboratorial do envenenamento botrópico e crotálico em bovinos. Unimar Ciências, v.4, n.2, p.28-33, 1995.

22. SOUSA-E-SILVA, M.C.; TOMY, S.C.; TAVARES, F.L.; NAVAJAS, L.; LARSSON, M.H.; LUCAS, S.R.; KOGIKA, M.M.; SANO-MARTINS, I.S. 2003. Hematological, hemostatic and clinical chemistry disturbances induced by Crotalus durissus terrificus snake venom in dogs. Hum Exp Toxicol v.22, p.491-500, 2003.

RESUMO

Com o intuito de se encontrar tratamentos complementares ou alternativos para os casos de acidentes ofídicos por Crotalus, foi testado o extrato de Mikania glomerata juntamente como soro antiofídico. Os ratos Wistar foram divididos em três grupos: G1 (controle), G2 (veneno + soro antiofídico) e G3 (veneno + soro antiofídico + extrato aquoso de Mikania glomerata). O veneno da Crotalus dusrissus terrificus (10mg/kg) foi inoculado, via subcutânea, na face lateral da coxa do membro posterior esquerdo. As avaliações clínicas, hematológicas e bioquímicas sérica foram feitas em três momentos: (M1) 30 minutos após inoculação, (M2) 6 horas após inoculação e (M3) 24 horas após inoculação. O exame histopatológico realizou-se no momento M3. Os animais apresentaram hipotermia após 6 horas da inoculação do veneno e também uma pequena diminuição na freqüência respiratória, que se manteve nos valores de referência para espécie. Houve edema nos membros esquerdo e direito após a inoculação em comparação aos animais do grupo controle, que justifica ações local e sistêmica do veneno. Não houve alterações nos dados de eritrograma e proteína plasmática total. Houve leucocitose com aumento de neutrófilos e diminuição de linfócitos nos grupos G2 e G3. Houve um aumento da creatinoquinase, uréia e creatinina após a inoculação. Os achados histopatológicos incluem: degeneração, edema, congestão e hemorragias renais e musculares, necrose de coagulação, degeneração hidrópica renal e necrose tubular aguda. A principal ação do extrato de Mikania glomerata foi a redução ou prevenção de lesões musculares e renais como observadas à histopatologia.

Unitermos: Crotalus durissus terrificus; Mikania glomerata; Ratos Wistar; Intoxicação experimental; histopatólogia

SUMMARY

This study had as aim evaluates the effect of Mikania glomerata for cases of accidents by Crotalus durissus terrificus as additional or alternative treatment, together or not with antiophidian serum. The rats were divided into three groups: G1 (control), G2 (venom + antivenin), G3 (venom + antivenin + extract of Mikania glomerata). The venom of Crotalus durissus terrificus (10mg/kg) was inoculated subcutaneously, on a lateral face of the left posterior limb. The clinical and laboratory evaluations in 3 moments: (M1) 30 minutes after inoculation, (M2) 6 hours after inoculation and (M3) 24 hours after

inoculation. Histopathology examination was performed in M3 group. The animals presented hypothermia after 6 hours of inoculation of the venom. There was edema in the left and right members after inoculation compared to the control group, which justifies local and systemic actions of venom. No change in erythrogram and total plasma protein. There was leukocytosis with increase of neutrophils, decrease of lymphocytes in groups G2 and G3. There was an increase of creatine kinase, urea and creatinine after inoculation. The histopathologic findings include: degeneration, edema, congestion and hemorrhage kidney and muscle, necrosis of clotting, kidney degeneration hydropic and acute tubular necrosis. The main action of the extract of Mikania glomerata was the reduction or prevention of muscle injury and kidney observed at the histopathology.

Uniterms: Crotalus durissus terrificus; Mikania glomerata; Wistar rats; experimental intoxication; histopathology

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão da temperatura, freqüências respiratória e cardíaca e edema de membro direito e esquerdo segundo grupos e momentos de avaliação. Botucatu, 2008.

Grupos e Momentos	Temperatura (°C)	Freqüência respiratória (mpm)	Freqüência cardíaca (bpm)	Edema de membro direito (cm)	Edema de membro esquerdo (cm)
G1 M1	37,13 Aa ±0,1966	104,3 Aa ± 17,4	218 Aa ± 11,2	0,67 Ba ± 0,08	0,77 Ba ± 0,10
G1 M2	37,17 Aa ±0,3141	101,7 Aa ± 17,6	218 Aa ± 13,1	0,77 Ba ± 0,08	0,88 Ba ± 0,16
G1 M3	36,583 Aa ±0,7859	116,3 Aa ± 24,6	200,3 Aa ± 14,3	0,68 Ba ± 0,08	0,77 Ba ± 0,08
G2 M1	37,1 Aa ± 0,2	112,7 Aa ± 25	212,7 Aa ± 18,7	0,77 Ba ± 0,15	1,32 Aa ± 0,12
G2 M2	34,6 Bb ± 1,6	90,3 Aa ± 16,4	202 Aab ± 43,1	1,00 Aa ± 0,13	1,53 Aa ± 0,20
G2 M3	35,8 Aab ± 0,9	121 Aa ± 8,9	126,7 Ab ± 77,2	0,85 ABa ± 0,21	1,15 Aa ± 0,29
G3 M1	36,1 Aa ± 1,7	96 Aa ±17,2	213 Aa ± 17,8	0,95 Aa ± 0,06	1,33 Aa ± 0,16
G3 M2	35,2 Ba ± 1,1	119,7 Aa ± 25,1	210,7 Aab ± 15,1	0,78 Bb ± 0,04	1,08 Ba ± 0,13
G3 M3	35,8 Aa ± 0,9	119,2 Aa ± 18,1	179 Ab ± 30,8	0,90 Aa ± 0,10	1,28 Aa ± 0,10

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (p>0,05). G1 (Controle), G2 (Veneno + Soro antiofídico) eG3 (Veneno + Soro antiofídico + Mikania glomerata)

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão da uréia, creatinina, creatinoquinase (CK), número de hemácias, hemoglobina e volume globular (VG) segundo grupos e momentos de avaliação. Botucatu, 2008.

Grupos e Momentos	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	CK (UI/L)	N° de hemácias (/µL)	Hemoglobina (g/dL)	VG (%)
G1 M1	39,90 Ba ± 15,6	0,59 Ca ± 0,52	38,92 Ba ±24	8.111.666,67 Ba ±469.656	14,58 Ca ±0,2	43,50 Ba ±1,04
G1 M2	44,90 Ba ± 11,7	0,57 Aa ±0,57	60,50 Ba ±36,65	6.930.000,00 Bb ±389.057	13,95 Ba ±0,6	42,17 Ba ±1,32
G1 M3	47,68 ABa ± 1,85	0,46 Bb ± 0,46	68,05 Aa ±33,42	6.890.000,00 Bb ±261.304	14,25 Ba ±0,42	42,50 Ba ±0,54
G2 M1	69,68 Aa ±6,46	0,94 Aa ±0,07	477,42 Aa ±195,59	8.643.333,33 Ba ±623.560	17,57 Ba ±0,4	53,67 Aa ±1,96
G2 M2	60,70 Aa ± 9,29	0,59 Ab ±0,02	385,08 Aa ±206,17	6.278.333,33 Bb ±778.085	16,33 Aab ±1,38	49,00 Ab ±3,68
G2 M3	41,17 Ba ±5,27	0,62 Ab ±0,14	68,05 Ab ±33,42	7.285.000,00 Bb ±838.970	14,95 ABb ±0,83	45,00 ABb ±2,68
G3 M1	67,75 Aa ±5,7	0,75 Ba ±0,1	378,9 Aa±131,01	10.378.333,33Aa ±1.007.083,25	19,56 Aa ±1,0	55,23 Aa ±3,87
G3 M2	62,60 Aa ± 9,8	0,55 Ab ±0,07	269,35 Ab ±104,22	8.173.333,33 Ab ±635.945	16,35 Ab ±0,1	49,17 Ab ±1,32
G3 M3	83,02 Aa ±47,59	0,66 Aab ±0,06	76,72 Ac ±78,62c	8.740.000,00 Ab ±482.866	15,77 Ab ±0,8	47,83 Ab ±2,4

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (p>0,05). G1 (Controle), G2 (Veneno + Soro antiofídico) eG3 (Veneno + Soro antiofídico + Mikania glomerata)

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão do fibrinogênio, leucócitos, neutrófilos, linfócitos e proteína plasmática total (PPT) segundo grupos e momentos de avaliação. Botucatu, 2008.

Grupos e Momentos	Fibrinogênio	Leucócitos (/µL)	Neutrófilos (/µL)	Linfócitos (/µL)	PPT
G1 M1	300,00 Aa ±109,54	5.333,33 Ba ±1.087,5	2.294,17 Ba ±548,48	2.565,50 Ba ±490,95	6,40 Ab ±0,12
G1 M2	233,33 Aa ±81,650	5.183,33 Ba ±670,57	1.783,67 Ba ±380,08	3.072,50 Aa ±574,40	6,10 Ab ±0,27
G1 M3	266,67 Aa ±103,28	5.366,67 Aa ± 939,5	2.013,00 Ba ±205,83	2.730,50 Aa ±871,64	6,90 Ba ±0,20
G2 M1	200,00 Aa ±0	10.083,33 Aa ±3.185,9	4.874,50 Aa ±1.180,7	4.274,00 ABa ±2.179,6	6,30 Ab ±0,41
G2 M2	300,00 Aa ±109,54	8.333,33 Ba ±2.739,8	6.748,17 Aa ±2.195,4	1.166,33 Bb ±548,71	5,83 Ab ±0,34
G2 M3	366,67 Aa ±150,55	3.583,33 Ab ±1.049,6	1.665,00 Bb ±517,87	1.579,17 ABb ±480,66	7,53 Aa ±0,35
G3 M1	233,33 Aa ±81,65	9.883,33 Aab ±2.472,6	3.862,50 Bb ±1.060,2	5.165,70 Aa ±1.726,5	6,267 Aa ±0,37
G3 M2	266,67 Aa ±103,28	14.016,70 Aa ±5.093,7	11.079,20 Aa ±4591,3	2.378,83 Ab ±696,82	6,33 Aa ±0,30
G3 M3	366,67 Aa ±81,333	5.300,00 Ab ±2.383,3	4.031,50 Ab ±1.825,7	904,83 Bb ±710,10	6,53 Ba ±0,56

a, b – em cada coluna, para cada Grupo, médias de Momentos seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05). A, B – em cada coluna, para cada Momento, médias de Grupos seguidas de mesma letra Maiúscula não diferem pelo teste de Tukey (p>0,05). G1 (Controle), G2 (Veneno + Soro antiofídico) eG3 (Veneno + Soro antiofídico + Mikania glomerata)

Tabela 4. Número de animais que apresentaram lesões histológicas na musculatura e nos rins no momento M3, em ratos inoculados com veneno da serpente Bothrops jararaca. Botucatu, 2008. (Escores: 1 - discreta, 2 – moderada e 3 – acentuada)

Escores / Lesão	1	2	3	Grupos
	N° de animais			
Degeneração	2	0	0	G1
	0	3	3	G2
	1	4	1	G3
Necrose de coagulação	2	0	0	G1
	0	3	3	G2
	1	3	1	G3
Regeneração de fibra	0	0	0	G1
	2	4	0	G2
	3	1	0	G3
Edema	6	0	0	G1
	0	5	1	G2
	0	3	3	G3
Congestão	3	0	0	G1
	4	0	0	G2
	5	0	0	G3
Hemorragia	0	0	0	G1
	2	0	6	G2
	2	0	0	G3
Degeneração hidrópica renal	5	1	0	G1
	0	4	2	G2
	0	0	6	G3
Necrose tubular aguda	3	0	0	G1
	3	1	2	G2
	0	0	6	G3
Congestão	4	0	0	G1
	0	6	0	G2
	0	2	4	G3
Hemorragia	0	0	0	G1
	1	2	3	G2
	0	0	6	G3

G1 (Controle), G2 (Veneno + Soro antiofídico) eG3 (Veneno + Soro antiofídico + Mikania glomerata)
Número total de animais submetidos a histopatologia = 6.