



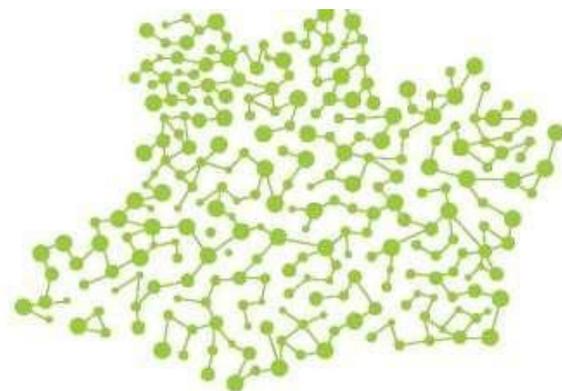
**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DR. HEITOR VIEIRA
DOURADO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
TROPICAL MESTRADO EM DOENÇAS TROPICAIS E INFECCIOSAS**

**ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM PACIENTES
DE ACIDENTE OFÍDICO BOTRÓPICO NA AMAZÔNIA
BRASILEIRA**

FABIANE BIANCA ALBUQUERQUE BARBOSA

MANAUS

2023



FABIANE BIANCA ALBUQUERQUE BARBOSA

**ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM PACIENTES
DE ACIDENTE OFÍDICO BOTRÓPICO NA AMAZÔNIA
BRASILEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade do Estado do Amazonas em Convênio com a Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, para obtenção do grau de *Mestre em Doenças Tropicais e Infeciosas*.

Orientador: **Prof. Dr. Allyson Guimarães da Costa**

Co-orientador: **Prof. Dr. Wuelton Marcelo Monteiro**

MANAUS

2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

B238aa Barbosa, Fabiane Bianca Albuquerque

Alterações histopatológicas em pacientes de acidente ofídico botrópico na Amazônia brasileira / Fabiane Bianca Albuquerque Barbosa. Manaus : [s.n], 2023.
84 f.: color.; 29 cm.

Dissertação - PGSS - Doenças Tropicais e Infecciosas (Mestrado) - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2023.

Inclui bibliografia

Orientador: Costa, Allyson Guimarães da
Coorientador: Monteiro, Wuelton Marcelo

1. Ofidismo. 2. Envenenamento. 3. Bothrops. 4. Dano tecidual local. 5. Histopatologia. I. Costa, Allyson Guimarães da (Orient.). II. Monteiro, Wuelton Marcelo (Coorient.). III. Universidade do Estado do Amazonas. IV. Alterações histopatológicas em pacientes de acidente ofídico botrópico na Amazônia brasileira

FOLHA DE JULGAMENTO**ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM PACIENTES DE
ACIDENTE OFÍDICO BOTRÓPICO NA AMAZÔNIA
BRASILEIRA****FABIANE BIANCA ALBUQUERQUE BARBOSA**

“Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Doenças Tropicais e Infecciosas, aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade do Estado do Amazonas em convênio com a Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado”.

Banca Julgadora:

Presidente

Membro

Membro

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais, Claudeny Rodrigues de Albuquerque e Antonio Francisco Pereira Barbosa. Sem a dedicação, cuidado e amor de vocês eu nada seria.

AGRADECIMENTOS

Durante este período do mestrado, muitas pessoas foram essenciais, contribuindo direta ou indiretamente para que chegasse este momento. Sem elas, muito disso não seria alcançado e, ainda que fosse, não teria o mesmo significado.

Aos meus pais, Claudeny Rodrigues de Albuquerque e Antonio Francisco Pereira Barbosa, por toda dedicação, carinho, cuidado e amor que eu tenho o privilégio de receber todos os dias. Tenho um orgulho imenso de vocês e muito obrigado, principalmente, por todo o esforço, renúncias e apoio para que eu pudesse seguir o caminho que escolhi. Jamais conseguirei retribuir à altura, mas seguirei tentando.

Ao meu orientador, Dr. Allyson Guimarães da Costa, por toda a paciência e compreensão, especialmente nos últimos meses. Muito obrigado pela sua dedicação com os alunos, pelo amor em ensinar e pela empatia que demonstra em muitos momentos. A sua orientação foi uma peça fundamental no meu crescimento pessoal e profissional.

Ao meu co-orientador, Dr. Wuelton Marcelo Monteiro, pelo conhecimento compartilhado, primeiramente nas disciplinas de epidemiologia e acidentes por animais peçonhentos, como também em reuniões do grupo de pesquisa. Aprender com uma das minhas referências foi um privilégio.

A Dra. Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett pela colaboração, paciência para ensinar e a ajuda em diversos momentos. Sua paixão pela linha de pesquisa e cuidado com os pacientes são inspiradoras.

Ao meu amigo Hiochelson Najibe dos Santos Ibiapina, pela colaboração inestimável neste trabalho e em muitos outros que já fizemos. É sempre divertido, produtivo discutir ciência com você em meio a café da tarde, ou energético da noite, e agradeço a parceria profissional e pessoal de tantos anos.

A Dra. Monique Freire e Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira, pela colaboração na leitura das lâminas, paciência em ensinar e discussões produtivas que tivemos. Obrigado por dividir um pouco do tempo de vocês comigo.

A Rima de Souza Raad, por ter iniciado a coleta dos dados que deu origem a este estudo. Muito obrigada pela colaboração.

À equipe da Gerência de Anatomia Patológica da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Viera Dourado, pela recepção e toda a ajuda para realizar este trabalho.

Aos integrantes dos grupos de pesquisa Amazon InterScience (UFAM/HEMOAM) e CEPCLAM (FMT-HVD), dos quais faço parte, pelas reuniões e discussões científicas, além das experiências compartilhadas, que me enriqueceram profissional e pessoalmente.

Aos colegas e amigos que acompanharam essa jornada, especialmente Êndila Barbosa, Gláucia Lima, Karolaine Bentes e Lucas Nascimento pelo companheirismo, compreensão em momentos que eu estive ausente por demandas de trabalho, pelas trocas em cafés, sushis ou mesmo no laboratório enquanto esperávamos algum procedimento terminar. Sou muito feliz e grata por tê-los em minha vida.

À minha turma de mestrado que, mesmo com a pandemia, esteve unida em diversos momentos, principalmente durante as disciplinas. Em especial, Amanda Carvalho, Gabrielly Santos, Jefferson Valente, Thaís Gomes e Yanka Rodrigues, que foram um presente do mestrado. Obrigado por serem minha rede de apoio. Aprendi, e aprendo, muito com vocês e sou grata porque, mesmo com sendo um grupo tão diferente, nos entendemos tão bem.

E, finalmente, a todos os pacientes que aceitaram participar deste estudo. Meu respeito e gratidão.

DECLARAÇÃO DAS AGÊNCIAS FINANCIADORAS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento da Bolsa de Estudos, além do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), através das resoluções nº 002/2008, 007/2018 e 005/2019 (Programa Pró-Estado) por financiarem indiretamente esta pesquisa.

EPÍGRAFE

*“Science is more than a body of knowledge.
It is a way of thinking; a way of skeptically
interrogating the universe with a fine
understanding of human falability.”*

Carl Sagan

RESUMO

As manifestações clínicas dos envenenamentos botrópicos podem ir desde sangramentos sistêmicos a lesões locais graves, como a formação de bolhas, que podem evoluir para complicações, tais quais infecção secundária e necrose. Na literatura, os relatos dos dados histopatológicos em humanos ainda são escassos, assim como a relação entre as lesões a nível microscópico e a evolução clínica dos pacientes. Assim, analisamos aqui as características epidemiológicas, clínicas, laboratoriais e histopatológicas em pacientes de envenenamento botrópico. O estudo retrospectivo envolveu 22 pacientes de envenenamento botrópico, divididos em dois grupos de acordo com o dia que realizaram biópsia da lesão tecidual local (Grupo 1 - <72 horas pós acidente ofídico; Grupo 2 - ≥72 horas pós acidente), que possuíam material biológico disponível para análise. Os dados histopatológicos, clínicos, epidemiológicos e laboratoriais foram coletados e armazenados para a realização das análises no GraphPad Prism (v8.0) e Stata (v13). Os resultados demonstraram que características clínicas locais dos grupos G1 e G2 eram semelhantes em relação a presença de edema, eritema, equimose e sangramento local, enquanto apenas o G1 apresentou celulite e drenagem de exsudato e G2 evoluiu com abscesso. Quando avaliados em relação a gravidade o G1 apresentou pacientes leves, moderados e graves enquanto G2 tinha apenas casos graves e moderados. O sinal clínico semelhante em todos foi edema, eritema era comum nos casos moderados e sinais de infecção secundária, além de bolhas e necrose, estavam presentes em pacientes graves. Quanto aos dados histopatológicos, ambos os grupos apresentaram alterações na epiderme como hiperqueratose, bolha (Grupo 1), acantose e espongiose (Grupo 2). Na classificação clínica, em pacientes moderados do G1 observou-se extravasamento eritrocitário, infiltrado inflamatório misto e vasculite, enquanto o G2 apresentou sinais de extravasamento eritrocitário, trombo de fibrina e abscesso. Os achados dos pacientes graves no G1 também foram extravasamento eritrocitário com infiltrado inflamatório e no G2 resultados semelhantes foram observados, além de homogeneização de colágeno e presença de fibroblastos ativados. A caracterização dos dados clínicos e histopatológicos é mais uma ferramenta que contribui para esclarecer os mecanismos do dano tecidual além de levantar questionamentos sobre a possibilidade de um manejo clínico personalizado e o uso de medicamentos adjuvantes como uma abordagem no cuidado dos pacientes de envenenamentos botrópicos

Palavras Chaves: Ofidismo, Envenenamento, *Bothrops*, Dano Tecidual Local, Histopatologia.

ABSTRACT

The clinical manifestations of *Bothrops*' envenomation can range from systemic bleeding to severe local injuries, such as the formation of blisters, which can progress to complications, like secondary infection and necrosis. The literature data of histopathological data from studies in humans are still scarce, as is information about the relationship between microscopic lesions and clinical evolution of patients. This study aims to analyze epidemiological, clinical, laboratorial and histopathological characteristics of patients who suffer *Bothrops* envenomation, as well as to describe it, characterize the histopathological aspects and evaluate the clinical evolution of these individuals. The retrospective study involved 22 patients with *Bothrops* envenomation, divided into two groups according to the day they underwent biopsy of local tissue lesion (Group 1 - <72 hours after snakebite; Group 2 - \geq 72 hours after accident), who had biological material available for analysis. Histopathological, clinical, epidemiological and laboratory data were collected and stored for analysis in GraphPad Prism (v8.0) and Stata (v13). The results showed that local clinical characteristics of groups G1 and G2 were similar in terms of the presence of edema, erythema, ecchymosis and local bleeding, while only G1 had cellulitis and exudate drainage and G2 evolved with abscess. When evaluated in terms of severity, G1 had mild, moderate, and severe patients, while G2 had only severe and moderate cases. The similar clinical sign in all was edema, erythema was common in moderate cases and signs of secondary infection, in addition to blisters and necrosis, were present in severe patients. As for the histopathological data, both groups presented changes in the epidermis such as hyperkeratosis, blister (Group 1), acanthosis and spongiosis (Group 2). The clinical classification, in moderate patients in G1, showed erythrocyte extravasation, mixed inflammatory infiltrate and vasculitis, while G2 presented signs of erythrocyte extravasation, fibrin thrombus and abscess. The findings of critically ill patients in G1 were also erythrocyte extravasation with inflammatory infiltrate and in G2 similar results were observed, in addition to collagen homogenization and the presence of activated fibroblasts. Characterization of clinical and histopathological data is yet another tool that contributes to clarifying the mechanisms of tissue damage, in addition to raising questions about the possibility of personalized clinical management and the use of adjuvant drugs as an approach in the care of patient's victims of *Bothrops* envenoming.

Keywords: Snakebite, Envenoming, *Bothrops*, Local Tissue Damage, Histopatology.

RESUMO LEIGO

As picadas da cobra jararaca são um grave problema de saúde na Amazonia brasileira. O veneno desse animal pode causar vários problemas no corpo da vítima, principalmente ferimentos no local da picada, que podem se agravar em infecções e outras complicações nessa região. Atualmente, os sinais e sintomas causados pelas picadas de cobra são bem conhecidos, porém as mudanças que o veneno causa dentro da pele dos pacientes, chamada aqui de tecido, que podem ser vistas com ajuda de microscópios, ainda são pouco conhecidas. Conhecer essas mudanças também pode ajudar a entender se, e como, elas estão relacionadas com os sinais e sintomas desses pacientes, além de fornecer informações sobre o melhoramento desses indivíduos. Por isso, o objetivo deste estudo é examinar as mudanças que o veneno da jararaca causa no tecido dos pacientes, descrever as informações clínicas e laboratoriais dessas pessoas, relatar as alterações encontradas na pele (visualizadas no microscópio), e avaliar como elas estão relacionadas com a piora ou melhoras dessas pessoas. O que nós encontramos é que os pacientes picados por jararaca têm sinais semelhantes como edema (inchaço) e eritema (vermelhidão) na pele, mas alguns podem piorar e desenvolver infecções e formar bolhas, parecidas com as de queimadura, na pele. Quando analisamos a pele do paciente no microscópio, notamos que eles têm sangramento dentro do tecido, como também apresentam células envolvidas na inflamação e alguns apresentam resultados diferentes como infecções e presença de bolha. Essas informações sobre os sinais e sintomas dos pacientes, junto com as mudanças do tecido que observados no microscópio ajudam a entender como o veneno da jararaca causa danos no tecido e levanta perguntas sobre talvez tratar esses pacientes de maneira diferente, tanto nos cuidados do hospital, quanto nos medicamentos que eles recebem para tratar as picadas da jararaca.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição dos casos de acidentes ofídicos a nível mundial.	18
Figura 2. Distribuição espacial de acidentes ofídicos no estado do Amazonas entre 2007 e 2012.	19
Figura 3. Manifestações sistêmicas dos envenenamentos botrópicos.....	22
Figura 4. Manifestações locais dos envenenamentos botrópicos.....	24
Figura 5. Complicações locais consequentes do envenenamento botrópico.....	25
Figura 6. Diagrama de uma visão geral da pele e anexos.	28
Figura 7. Diagrama ilustrando a sequência de camadas da epiderme.	29
Figura 8. Miotoxicidade induzida pelo veneno bruto de <i>Bothrops asper</i> no músculo gastrocnêmio de camundongos..	32
Figura 9. Morfologia da lesão e regeneração do músculo esquelético após envenenamento por <i>Bothrops atrox</i>	33
Figura 10. Alterações histológicas induzidas por BaP1, uma metaloprotease de <i>Bothrops asper</i> , na pele.....	34
Figura 11. Ação de duas SVMP de <i>Bothrops atrox</i> (Atroxlisina-Ia e Batroxragina) na pele de camundongos.....	35
Figura 12. Procedimento histotécnico de reinclusão e recorte da amostra.....	42

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Número de ampolas do soro indicado para envenenamentos botrópicos de acordo com a gravidade.....	27
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES DE MEDIDA

AA	Ácido Araquidônico
FMT-HVD	Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado
Hrs / H	Horas/Hora
IgG	Imunoglobulina G
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
LAAO	L-Aminoácido Oxidase
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i> / Salina Tamponada com Fosfato
PLA2	<i>Phospholipase A2</i> / Fosfolipase A2
SAB	Soro Antibotrópico
SABC	Soro Antibotrópico Crotálico
SABL	Soro Antibotrópico Laquétrico
SINAN	Sistema de Informação de Agravos e Notificação
SVMP	<i>Snake Venom Metallo Proteases</i> / Metaloprotease do Veneno de Serpentes
SVSP	<i>Snake Venom Serine Proteases</i> / Serinoprotease do Veneno de Serpentes
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 Epidemiologia	17
1.2 Peçonha Botrópica e Mecanismos Patológicos	20
1.3 Quadro Clínico após o Envenenamento Botrópico	21
1.3.1 Manifestações e Complicações Sistêmicas	22
1.3.2 Manifestações Locais	23
1.3.3 Complicações Locais	24
1.4 Classificação do Acidente e Tratamento	26
1.5 Sistema Tegumentar	27
2. OBJETIVOS	37
2.1. Geral	37
2.2 Específicos	37
3. MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1. Desenho de Estudo	38
3.2. População de Estudo	38
3.3. Critérios de Elegibilidade	38
3.4. Amostragem	38
3.7. Aspectos Éticos	42
3.8. Análises de Dados e Estatísticas	43
4. PRODUTO DA DISSERTAÇÃO	44
7. LIMITAÇÕES	70
8. CONCLUSÕES	70
7. REFERÊNCIAS	70
7. ANEXOS E APÊNDICES	77

7.1. Equipe do Projeto	77
7.2. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado	77
7.3. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Amazonas	78
7.4. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	81

1. INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia

Os envenenamentos ofídicos ocorrem a partir da inoculação de toxinas do veneno de serpentes peçonhentas em seres humanos e representam um grave problema de saúde pública mundial, principalmente devido aos altos índices de morbidade e mortalidade que ocasionam. (1,2). Em 2017, foi reconsiderado pela Organização Mundial da Saúde como doença tropical negligenciada e afeta especialmente trabalhadores de áreas rurais, ligados à agricultura, caça e pesca, sendo então considerada uma doença que não apenas está relacionada à pobreza como também a perpetua (3–5).

As maiores prevalências e incidências deste agravo estão nas regiões tropicais e subtropicais, principalmente em países da América Latina e dos continentes Asiático, Africano e Oceania, uma vez que nestes locais também estão concentradas a maioria das serpentes peçonhentas (6). Estima-se que, anualmente, ocorram cerca de 2,7 bilhões de envenenamentos ofídicos e consequentes 130 mil óbitos em todo o mundo, grande parte disso ocorrendo em áreas remotas de países com baixo e médio índice de desenvolvimento humano (IDH), onde o sistema de saúde é deficiente e/ou tratamento específico inexistente, tornando a população vulnerável aos piores desfechos (**Figura 1**) (6).

No Brasil, atualmente, há 4 gêneros principais que são considerados de importância médica, ou seja, que causam envenenamento e considerável dano em seres humanos. São eles: *Crotalus* spp., em que as serpentes são conhecidas popularmente como cascavéis, predominante em áreas de savana, encontrados principalmente em estados do nordeste do país, mas também em outras regiões, só que em populações menores e mais isoladas. Acidentes crotálicos correspondem a cerca de 8% dos ocorridos no Brasil (7,8). A *Lachesis* sp., conhecida popularmente como surucucu pico de jaca, representa a maior serpente peçonhenta do Brasil e habita locais de mata primária, com nenhuma ou pouquíssima alteração feita pelo homem. Os envenenamentos laquéticos correspondem a cerca de 4% dos notificados em território brasileiro e sempre são considerados graves do ponto de vista clínico (7,9).

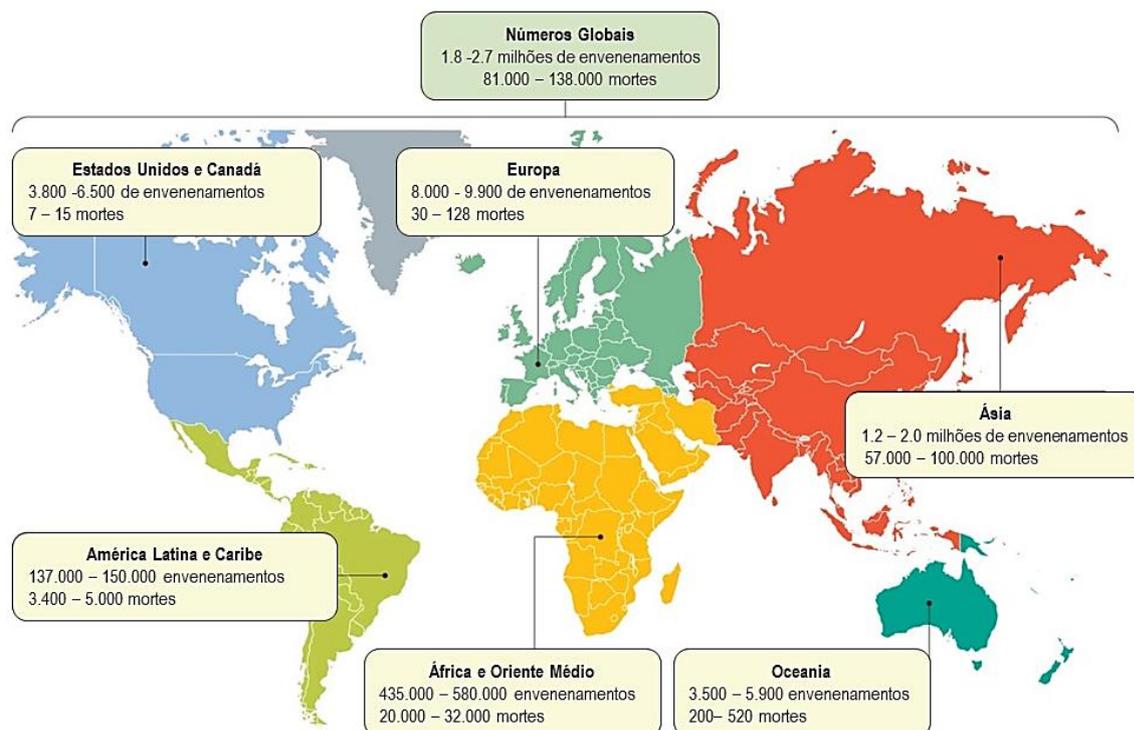


Figura 1. Distribuição dos casos de acidentes ofídicos a nível mundial.

Fonte: Adaptado de Gutiérrez et al., 2017 (2)

A Micrurus spp., gênero que engloba as cobras corais e é responsável por 1% dos acidentes notificados. São as menores cobras peçonhentas do país e possuem hábitos subterrâneos, razões pelas quais acidentes envolvendo esses animais não são tão frequentes. Além disso possuem padrão de coloração chamativo que pode ser imitado por alguns gêneros de serpentes não peçonhentas (7,10,11). E por fim, *Bothrops* spp que se destaca como o principal gênero de importância médica no Brasil, sendo responsável pela maior parte dos acidentes notificados. Está distribuído por todo o país, em diferentes espécies por região. Possui hábitos crepusculares, terrestres, embora algumas espécies sejam arborícolas, e podem ser encontradas em diversas áreas como cerrados, zonas rurais e periurbanas, florestas tropicais, no litoral e isoladas em ilhas (7,12). Na Amazônia brasileira ele é o principal causador de acidentes e envenenamentos ofídicos, sendo responsável por cerca de 80-90% dos casos (7,13,14).

No Amazonas, as notificações de acidentes ofídicos se estendem por todo o estado. Altas taxas de incidência ocorrem na região nordeste até o centro do estado, principalmente nos municípios de São Gabriel da Cachoeira, Uarini, Alvarães e Novo Airão, onde elas podem chegar em até 150 casos por 100.000 habitantes/ano, e áreas mais concentradas em Rio Preto da Eva, nos arredores de Manaus, e Borba localizado no sudeste do estado (**Figura 2**) (15).

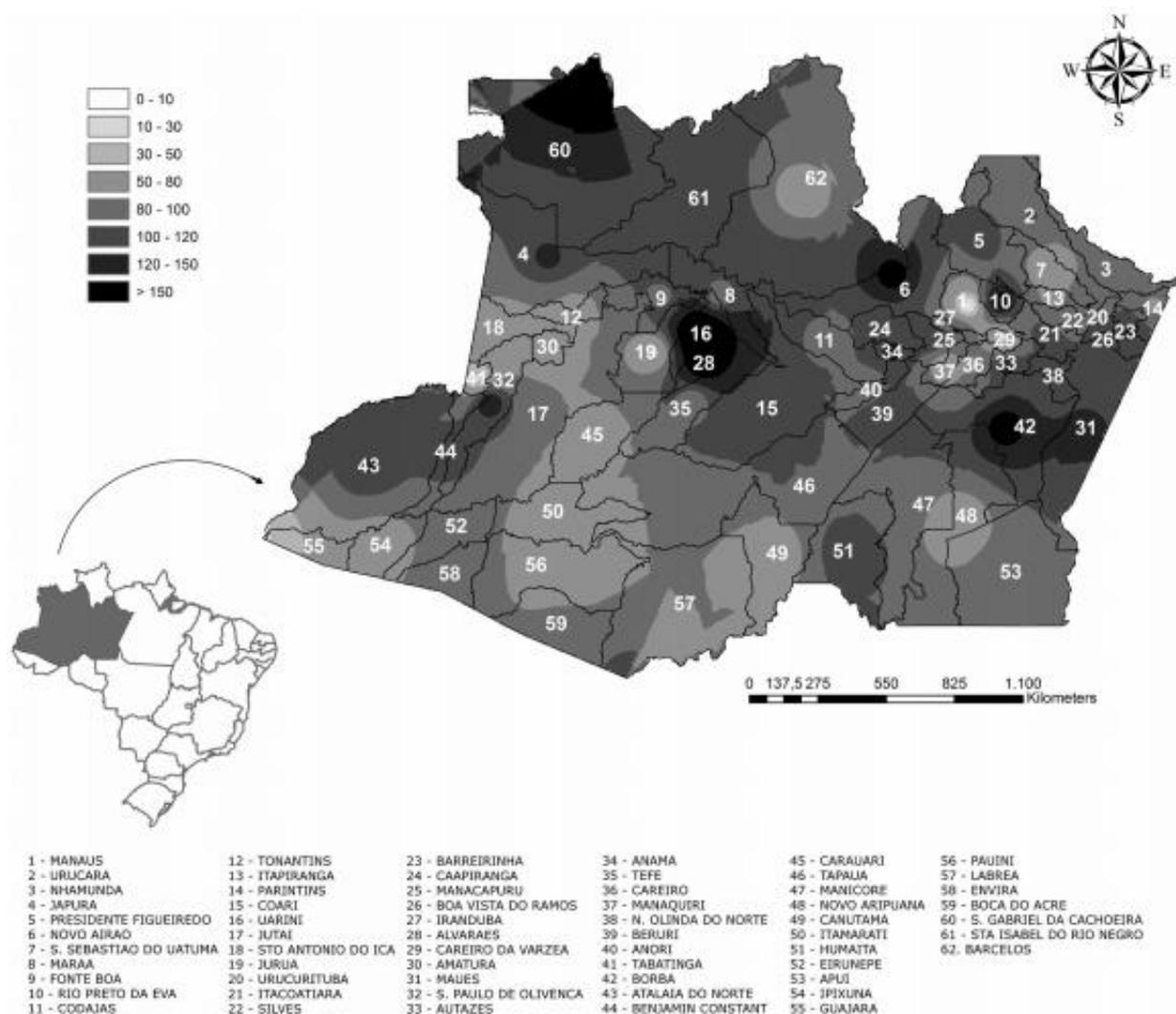


Figura 2. Distribuição espacial de acidentes ofídicos no estado do Amazonas entre 2007 e 2012.

Fonte: Feitosa et al., 2015b

Em toda a extensão do Amazonas, o gênero *Bothrops* spp protagoniza os casos de envenenamento por serpentes. Dados do Sistema de Informação de Agravos e Notificação (SINAN) estimam que entre 2020 e 2022 ocorreram cerca de 5.218 incidentes notificados no

estado (16). O maior número de casos ocorre entre dezembro e junho, que coincide com o período de chuvas mais elevado na região (17).

Apesar de haver um sistema de dados a nível nacional para coleta de informações sobre diversos agravos no Brasil, dentre eles os acidentes ofídicos, problemas com subnotificações de casos podem ocorrer, tanto por incompletude dos dados como também, principalmente no estado do Amazonas, devido às características geográficas que dificultam o acesso de muitas pessoas ao serviço de saúde. Essas subnotificações podem impactar no envio de recursos para o tratamento de acidentes ofídicos em determinadas áreas (18).

Os casos de acidentes ofídicos atingem principalmente homens em idade produtiva (18 a 65 anos), que trabalham e/ou moram em áreas rurais, como agricultores, caçadores e extrativistas, e estão envolvidos no sustento familiar ou comunitário (19). A dificuldade de acesso ao sistema de saúde e demora para receber o tratamento específico possibilita o desenvolvimento de complicações, além do surgimento de sequelas do envenenamento ofídico, o que pode representar um impacto econômico considerável para as vítimas (20).

1.2 Peçonha Botrópica e Mecanismos Patológicos

O veneno de serpentes do gênero *Bothrops* é uma complexa composição de toxinas, podendo sofrer variações de acordo com a idade da serpente, a distribuição geográfica e características do local em que habitam (21,22). É constituído principalmente por metaloproteases, serinoproteases, fosfolipases A2 e L-aminoácido oxidases. Em serpentes *B. atrox.*, as metaloproteases formam a maior parte da composição do veneno (23,24). Essas moléculas causam importantes atividades fisiopatológicas, com ação coagulante, inflamatória e hemorrágica, desencadeando sinais e sintomas característicos dos envenenamentos botrópicos, como dor, edema, alterações da coagulação e formação de bolha (25–27).

As metaloproteases presentes no veneno de serpentes (SVMPs) são, em sua maioria, enzimas zinco-dependentes e correspondem a cerca de 30% da composição deste veneno. No caso de serpentes *Bothrops atrox*, as SVMPs compõem em torno de 40% do veneno subdividindo nas classes PIII, PI e PII (23,28,29). Essas enzimas promovem a degradação da membrana basal e de componentes da matriz extracelular, além de atuarem em diferentes alvos dos sistemas de coagulação e fibrinólise e na ativação de mediadores pró-inflamatórios,

sendo responsáveis por grande parte dos efeitos locais e sistêmicos dos envenenamentos botrópicos (30–32)

As serinoproteases (SVSPs) são uma das mais abundantes toxinas presentes no veneno de serpentes do gênero *Bothrops* (SOUSA et al., 2013). Em geral, elas afetam principalmente fatores envolvidos no processo de coagulação, agregação plaquetária além de ações fibrinolítica e fibrinogenolítica, levando a um desequilíbrio hemostático nas vítimas (33). Além disso, também estão envolvidas na promoção de resposta inflamatória a partir da ação sobre o sistema complemento (31,34)

As fosfolipases A2 (PLA2) são enzimas que atuam sobre as membranas celulares, clivando fosfolípidios na ligação éster do carbono 2, liberando lisofosfato e ácidos graxos, como o ácido araquidônico (AA). A metabolização do AA leva a produção de eicosanóides a partir da via das ciclo-oxigenases (prostaglandinas e tromboxanos) ou da via das lipo-oxigenases (leucotrienos) (35,36). No veneno botrópico, as principais atividades dessa toxina são miotóxica e citotóxica, mas também pode apresentar efeitos hemolítico, hipotensivo e pró-inflamatório (37–39)

As l-aminoácidos oxidases (LAAOs) são uma família de proteínas amplamente distribuída em diferentes organismos, sendo encontradas, inclusive, no veneno de diferentes famílias de serpentes (40). São um dos principais componentes do veneno botrópico e estão relacionadas a diferentes atividades como a indução de agregação plaquetária, apoptose (41,42), citotoxicidade (43), além de atividades bactericidas e antiparasitárias (44). Apesar das diversas funções, os mecanismos pelos quais as LAAOs exercem suas atividades ainda não foram totalmente esclarecidos. Acredita-se que tais efeitos estejam, pelo menos em parte, relacionados ao peróxido de hidrogênio, produzido durante a reação enzimática (40,45).

1.3 Quadro Clínico após o Envenenamento Botrópico

Os envenenamentos por serpentes do gênero *Bothrops* sp. decorrem a partir da inoculação do veneno desses animais de forma intramuscular ou subcutânea em suas vítimas. Uma vez injetadas, as toxinas presentes no veneno iniciam suas reações locais imediatas e efeitos sistêmicos característicos deste agravo (1).

1.3.1 Manifestações e Complicações Sistêmicas

As principais manifestações sistêmicas do envenenamento botrópico estão relacionadas às alterações na hemostasia. Distúrbios de coagulação e na atividade plaquetária podem ocorrer devido a ação direta do veneno, que é capaz de promover consumo de fibrinogênio, resultando no aumento de tempo de coagulação e incoagulabilidade sanguínea (25,46). Tais ações podem levar a sangramentos no local da lesão pelo acidente ofídico, bem como em regiões distantes da picada, em ferimentos cutâneos pré-existentes, mucosas (gengivorragia e oftalmorragia), no sistema gastrointestinal (hematêmese, hematoquezia) (47–50) e, em alguns casos, podem ocorrer hemorragias intracranianas nos pacientes, cujo prognóstico é desfavorável, resultando em sequelas ou óbito (51–53).



Figura 3. Manifestações sistêmicas dos envenenamentos botrópicos. (A) Paciente apresentando gengivorragia cerca 1 hora e 30 minutos após a picada por serpente *Bothrops atrox* juvenil. (B) Oftalmorragia presente no mesmo paciente (A) cerca de 48 horas após receber tratamento. O paciente recebeu uma dose adicional de antiveneno para cessar o sangramento. (C) Paciente com picada no pé esquerdo (seta amarela) apresentando equimose ao longo do membro inferior, 12 horas após início do tratamento.

Fonte: Adaptado de Oliveira et al., 2019b (50)

Outras manifestações sistêmicas como cefaleia, visão turva, tonturas, vômito, sudorese, náuseas, mialgia, hipertensão, dores abdominais e diarreia também podem ocorrer, contudo em menor frequência (47,48).

A insuficiência renal aguda (IRA) é uma das mais importantes complicações sistêmicas dos envenenamentos botrópicos e possui um grande impacto na morbidade e mortalidade decorrente destes agravos (54). A sua patogênese pode estar relacionada a múltiplos fatores, dentre eles ação nefrotóxica das toxinas botrópicas, fatores imunológicos das vítimas e distúrbios de circulação ocasionados pelo veneno. A presença de comorbidades e altos níveis de lactato desidrogenase (LDH) são fatores de risco associados ao desenvolvimento dessa complicação (55).

1.3.2 Manifestações Locais

Os danos teciduais locais são uma das principais características dos envenenamentos botrópicos e eles ocorrem, principalmente, pela ação direta de toxinas do veneno, como também pela atividade inflamatória aguda promovida por esses componentes (26,32,56). Essa atividade pode promover desde efeitos mais leves como edema, calor local e eritema, até sinais mais graves como degradação tecidual, como, por exemplo, necrose (57).

Dentre os sinais e sintomas locais relatados, os mais frequentes são dor intensa, edema, eritema, calor, rubor e sangramentos locais ou perilesionais (47,48). Outras manifestações como linfadenomegalia, equimoses e a formação de bolhas também podem ocorrer (58,59). As bolhas são particularmente preocupantes, pois podem servir como um reservatório de veneno e ainda como porta de entrada para infecção secundária, podendo também facilitar o desenvolvimento de necrose, que são complicações típicas do envenenamento botrópico (59–61).



Figura 4. Manifestações locais dos envenenamentos botrópicos. **(A)** Ulceração e sangramento local com menos de 12 horas após envenenamento. **(B)** Bolhas serosas no pé direito. **(C)** Edema e bolhas serosanguinolentas 12 horas após a picada. **(D)** Bolha serosanguinolenta no dedo anelar direito 24 horas após a picada. **(E)** Edema intenso no pé direito, sangramento e equimose nos dedos. **(F)** Edema com 5 segmentos na perna esquerda em menos de 20 horas após envenenamento.

Fonte: De Oliveira et al., 2018 (57)

1.3.3 Complicações Locais

As infecções secundárias são umas principais complicações resultantes dos acidentes botrópicos (62). Sinais como abscesso, celulite ou erisipela podem ser observados no local ou próximo a lesão puntiforme decorrente do acidente, que se encontra em situação favorável para o desenvolvimento do processo infeccioso, seja por microrganismos presentes na microbiota oral das serpentes, características intrínsecas dos pacientes ou distúrbios induzidos pelo veneno, como a lesão tecidual local (63,64).

Algumas ações feitas após o envenenamento, como o uso de torniquetes, a procura por medidas empíricas (curandeiros, xamãs) e consequente demora para receber o tratamento médico adequado, o uso de produtos tópicos sem indicação médica, realização de incisões ou sucção do veneno no local, podem facilitar o surgimento de infecção (64–66). O ideal é que,

após o acidente ofídico, a vítima apenas lave o local da lesão com água e sabão (quando isso for possível) e busque atendimento médico o quanto antes.

A presença de infecção secundária pode ser, inicialmente, mascarada pelas manifestações comuns ao envenenamento botrópico, entretanto avaliações clínicas e laboratoriais podem auxiliar no diagnóstico deste problema (7). Sinais de inflamação local associados a febre ou picos febris, leucocitose, linfangites ou linfadenites, sinais de flutuação ao toque e secreções purulentas ou seroso-purulentas podem indicar a presença de um processo infeccioso (64).

Em envenenamentos botrópicos, a necrose pode surgir tanto por uma ação direta do veneno sobre o tecido cutâneo ou muscular quanto por ação indireta, a partir de isquemia induzida pela destruição de capilares sanguíneos por toxinas do veneno (67). Picadas em extremidades, como os dedos das mãos e pés, aumentam o risco desta complicação, bem como o uso de torniquete ou demora a receber o tratamento adequado (68). O manejo desse tipo de complicação é delicado e pode ir desde a remoção do tecido morto por desbridamento até a amputação do membro afetado (69,70).



Figura 5. Complicações locais consequentes do envenenamento botrópico. (A) Edema intenso, necrose na mão esquerda e gangrena no dedo anelar após mais de 48 horas de envenenamento. (B) O mesmo paciente (A) após amputação do dedo (em fase de recuperação). (C) Necrose na região distal do dedo mínimo após 48 horas do envenenamento (D) Envenenamento da região dorsal, que se espalhou para a palma da mão direita, necessitando de desbridamento cirúrgico da área de necrose formada 5 dias após a picada. (E) Amputação cirúrgica de uma extremidade. (F) Edema e necrose na região dos pés.

Paciente com envenenamento grave, apresentando síndrome compartimental 24 horas após a picada. Foi necessário fazer fasciotomia. (F) Abscesso e celulite devido a infecção secundária na região dorsal do pé esquerdo 48 horas após a picada.

Fonte: De Oliveira et al., 2018 (57)

A síndrome compartimental é a complicação mais incomum e, contudo, uma das mais preocupantes. Surge rapidamente, logo nas primeiras 24 horas após o envenenamento, e pode levar à isquemia e necrose muscular (71,72). Ela se inicia a partir de uma rápida resposta inflamatória e resulta num edema intenso, que aumenta a pressão intracompartimental, causando distúrbios no membro acometido (62,64). O manejo desse agravo é feito a partir de procedimento cirúrgico chamado fasciotomia, cujo objetivo é aliviar a pressão nos músculos do local afetado (64).

1.4 Classificação do Acidente e Tratamento

A classificação dos acidentes ofídicos é realizada exclusivamente a partir de sinais clínicos, locais e sistêmicos, observados durante a admissão do paciente e deve ser baseada no pior quadro entre os dois. Além disso, realiza-se na admissão o teste do tempo de coagulação (TC), que não é utilizado na classificação, mas é importante para acompanhamento do paciente antes e após a administração do soro antiofídico (60,74).

Os casos leves de envenenamento botrópico se caracterizam por dor e edema local pouco intenso ou ausente, manifestações hemorrágicas discretas na pele ou mucosas e TC normal ou alterado. Os moderados são aqueles em que o paciente apresenta dor e edema evidente (que ultrapassa o segmento anatômico acometido), são acompanhados ou não de alterações hemorrágicas locais ou sistêmicas e TC anormal ou alterado. Em envenenamentos graves, as manifestações clínicas observadas são edema local intenso e extenso, que pode atingir todo o membro acometido e evoluir para síndrome compartimental, dor intensa e eventual presença de bolhas. Quanto às manifestações sistêmicas, hipotensão arterial, choque, oligoanúria ou hemorragias intensas definem os casos como grave e o TC pode estar normal ou alterado (60,74).

Atualmente, o único tratamento específico contra os envenenamentos ofídicos é a soroterapia. No Brasil, os principais produtores de soro antiofídico (ou antiveneno) são o

Instituto Butantan, Instituto Vital Brazil, Fundação Ezequiel Dias e o Centro de Pesquisa e Produção de Imunobiológicos (75).

No caso de envenenamentos botrópicos, o soro comercial utilizado é o pentavalente, obtido pela hiperimunização de equinos com um *pool* de veneno de serpentes do gênero *Bothrops* (*B. jararaca* [50%], *B. jararacussu* [12,5%], *B. neuwiedi* [12,5%], *B. moojeni* [12,5%] e *B. alternatus* [12,5%]) (13). A composição do soro se dá a partir de frações F(ab')₂ de imunoglobulinas G (IgG) que são adquiridas do plasma desses animais e passam por um rigoroso processo de purificação, a fim de diminuir o risco de reações adversas (7).

A administração da soroterapia é realizada de acordo com a classificação do acidente, conforme preconizada pelo Ministério da Saúde e descrita no quadro abaixo (**Quadro 1**) (60).

Quadro 1. Número de ampolas do soro indicado para envenenamentos botrópicos de acordo com a gravidade.

Acidente	Antiveneno	Gravidade	Nº de ampolas
Botrópico	SAB ¹ SABL ² SABC ³	Leve: quadro local discreto; sangramento discreto em pele ou mucosas; pode haver distúrbio da coagulação	2 - 4
		Moderado: edema e equimose evidentes; sangramento sem comprometimento do estado geral; distúrbio da coagulação	4 - 8
		Grave: alterações locais intensas; hemorragia grave; hipotensão ou choque; insuficiência renal; anúria; pode haver distúrbio da coagulação.	12

¹SAB = soro antibotrópico (pentavalente); ²SABL = soro antibotrópico (pentavalente) e antilaquéutico; ³SABC = soro antibotrópico (pentavalente) e anticrotálico.

Fonte: Adaptado Guia de Vigilância em Saúde, 2019 (60)

1.5 Sistema Tegumentar

O sistema tegumentar compreende um conjunto de estruturas que formam a camada mais externa do organismo humano. Ele é formado por pele e anexos, como as glândulas sebáceas, sudoríparas, unhas e pelos. De forma geral, tem como função manter o equilíbrio do

organismo e, para isso, desempenha papéis de proteção física, térmica e contra possíveis patógenos invasores. Além disso, participa da termorregulação do corpo, possui atividade metabólica, como a síntese de vitamina D e excreção de eletrólitos em excesso, tem atividade sensorial, devido aos receptores presentes que permitem a percepção das mudanças de temperatura nos ambientes, de pressão e sensibilidade ao toque, além de atuar na vigilância imunológica (76–78) (**Figura 6**).

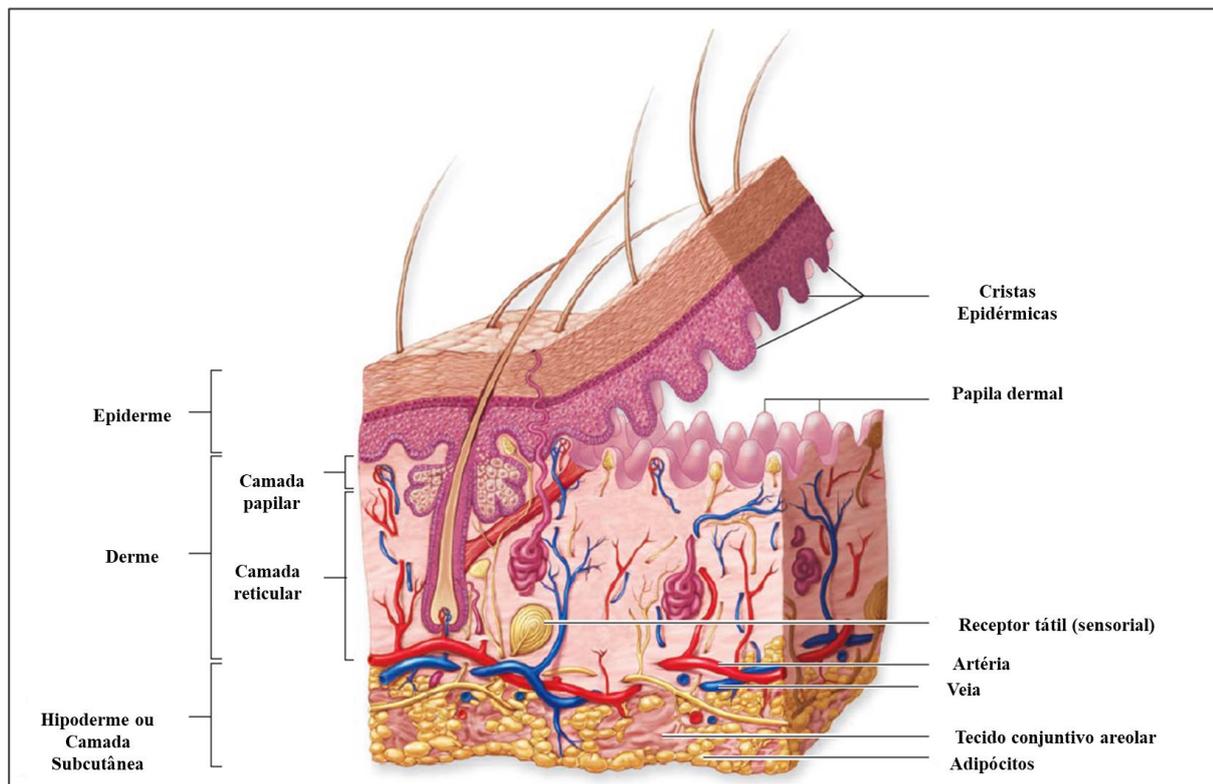


Figura 6. Diagrama de uma visão geral da pele e anexos (folículos pilosos, glândulas sudoríparas e sebáceas, a vasculatura e os principais receptores sensoriais).

adaptado de Junqueira's Basic Histology Text and Atlas. (76)

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano, compreendendo cerca de 20% do peso total do corpo. É formada por três camadas principais: epiderme, derme e hipoderme, sendo que cada uma delas possui características diferentes relacionadas a sua localização e funções exercidas (76).

A epiderme é a camada mais superficial da pele, sendo formada por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, dividido em diferentes camadas, chamadas de estratos, de acordo sua localização no corpo (estrato basal, espinhoso, granuloso, lúcido e

córneo). Em peles espessas, como aquelas encontradas nas solas dos pés e palmas das mãos, as cinco camadas estão presentes bem como glândulas sudoríparas, porém não há outros anexos da pele nessas regiões. Na pele delgada (ou fina), apenas quatro estratos estão presentes (basal, espinhoso, granuloso e córneo), assim como glândulas sudoríparas, sebáceas e pelos (folículo piloso e músculo eretor) (79). Essa camada não é vascularizada, portanto, recebe oxigênio e nutrientes a partir de difusão da derme, através da membrana basal (MB) (**Figura 7**).

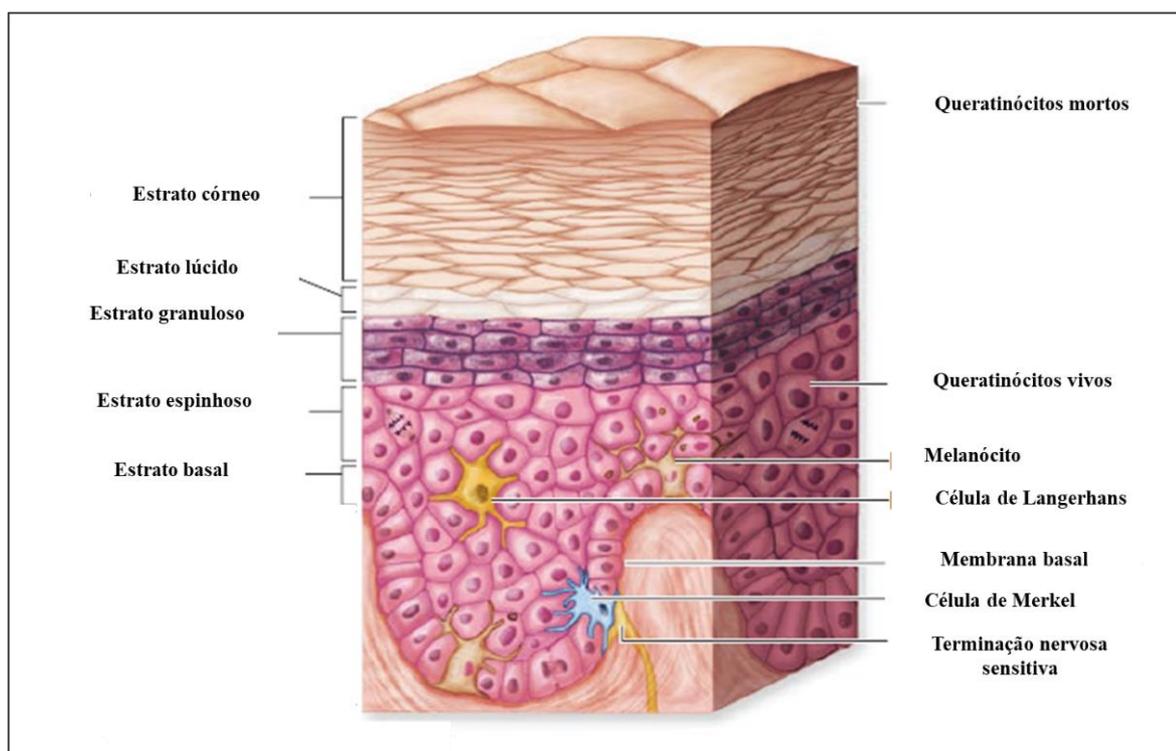


Figura 7. Diagrama ilustrando a sequência de camadas da epiderme e as localizações de três células não queratinócitos importantes na epiderme: melanócitos, células de Langerhans e célula tátil de Merkel.

Adaptado de Junqueira's Basic Histology Text and Atlas (76)

A membrana basal é uma fina camada de matrix extracelular (MEC), semelhante a um tecido, que serve como uma barreira e um ponto de ancoragem entre as células da camada basal do epitélio e a MEC do tecido conjuntivo (77,80). Os seus principais componentes são o colágeno do tipo IV, laminina, glicoproteínas e proteoglicanos (nidogeno e perlecano, respectivamente). O colágeno e a laminina formam redes poliméricas conectadas pelas proteínas citadas, contudo a composição e complexidade das MBs é dependente do tipo de célula ou tecido em que elas estão inseridas (81,82).

As funções exercidas pela MB são variáveis, como fornecer suporte estrutural, atuar como barreira para células danosas, protegendo o estroma tecidual, serve como reservatório para fatores de crescimento, o que pode influenciar na sobrevivência, migração e proliferação de células, faz a compartimentalização de diferentes tecidos ou tipos celulares, atua como um filtro e também protege os tecidos do estresse mecânico de origem fisiológica ou patológica (81,83).

A derme está localizada logo abaixo da epiderme, mais especificamente da junção dermo-epidérmica. Ela é formada por duas camadas estruturalmente distintas chamadas derme papilar e reticular. A derme papilar, localizada logo abaixo da membrana basal, forma as chamadas cristas (ou papilas) dérmicas, que são evaginações da derme no tecido epitelial e que se interligam com as cristas epidérmicas. Essa camada é delicada, composta por tecido conjuntivo frouxo, com fibras de colágeno do tipo I e III, fibroblastos além de leucócitos, mastócitos e células dentríticas espalhadas (76,77). Enquanto a derme reticular, mais espessa, consiste em tecido conjuntivo denso, principalmente colágeno do tipo I, com mais fibras e menos células que a camada papilar. Também estão presentes as fibras elásticas e proteoglicanos ricos em sulfato dermatano, que conferem resistência e elasticidade a essa camada (76,84,85).

Na derme estão localizadas as glândulas sudoríparas, sebáceas, folículos pilosos, além de uma rede rica de vasos sanguíneos e linfáticos que originam os capilares que irrigam e nutrem a derme papilar e membrana basal. Ademais também estão presentes receptores táteis e sensoriais, como as células de Merkel, corpúsculos de Pacinni e de Meissner (76).

Por fim, a hipoderme, também chamada de camada subcutânea ou fascia superficial, é formada por tecido conjuntivo frouxo que se conecta frouxamente aos órgãos subjacentes. Essa camada é formada por adipócitos, arranjados em lóbulos e separados por septos de tecido conjuntivo, que sofrem variação em número a depender da região corporal e estado nutricional do indivíduo. Dentre suas funções, estão proteger o corpo de impactos mecânicos, fazer isolamento térmico e atuar como armazenador de energia (76,77).

1.5 Envenenamento Botrópico e Anatomia Patológica

No envenenamento por viperídeos, os efeitos sistêmicos ocasionados pelo veneno são facilmente neutralizados pela soroterapia, quando aplicada rápida e adequadamente. Sabe-

se também que o soro antiofídico é capaz de chegar no local da lesão, contudo, a neutralização do dano tecidual, principalmente se o paciente demora a receber o tratamento adequado, ainda é um desafio (47,59).

As alterações teciduais locais ocasionadas pelo veneno botrópico são consequentes da ação separada ou sinérgica promovida pelas toxinas do veneno, principalmente as SVMPS e PLA2. As lesões no local da inoculação são em sua maioria intensas, seja pelo processo inflamatório consequente ao envenenamento ou mesmo ação direta do veneno, podendo resultar na formação de bolhas ou necrose (7).

Estudos bioquímicos, histológicos, ultraestruturais e imunohistoquímicos fornecem informações importantes acerca do dano tecidual local ocasionado pela inoculação de veneno botrópico bruto ou toxinas isoladas dele. Dados sobre a ação do veneno na degradação de componentes da matrix extracelular e a possível participação de metaloproteinases de matrix (MMPs) nos eventos que levam ao dano local são bem explorados em modelo animal, contudo ainda carecem da aplicação de novas metodologias para um entendimento completo deste agravo (86,87)

Diante disso, a maioria dos estudos de envenenamentos botrópicos com informações histológicas sobre a degradação tecidual local consequente a este agravo que estão disponíveis foram realizados em modelos experimentais. Em humanos é possível encontrar tais informações em relatos ou séries de casos, mas ainda assim são bastante escassos.

Estudos realizados em camundongos já demonstraram que a inoculação do veneno botrópico bruto pode, rapidamente, induzir danos ao tecido muscular, como hemorragia e necrose, levando a alterações estruturais deste tecido e a presença de infiltrado inflamatório no local (67,88), como demonstrado nas figuras 8 e 9. Além disso, já foi observado que a ação do veneno também pode comprometer nervos periféricos, promovendo a destruição de axônios, bainha de mielina e danos às células de Schwann (89).

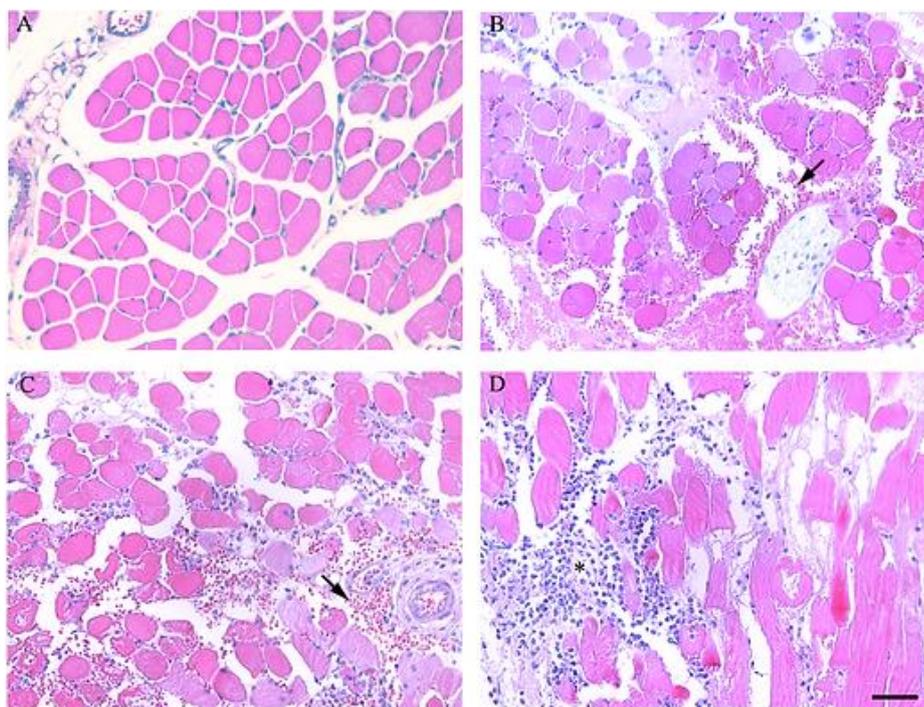


Figura 8. Miotoxicidade induzida pelo veneno bruto de *Bothrops asper* no músculo gastrocnêmio de camundongos. Tecido inoculado apenas com PBS (A) foi utilizado como controle. Amostras de tecido inoculadas com 50 μg do veneno de *B. asper* foram coletadas 1 hora (B), 6 hrs (C) e 24 hrs (D) pós-inoculação. Pode-se observar hemácias abundantes entre 1 e 6 horas (setas em B e C) e intenso infiltrado inflamatório 24 horas pós envenenamento (asterisco em D). Amostras coradas com hematoxilina e eosina (HE) As barras representam 100 μm .

Fonte: Adaptado de Herrera et al., 2016 (67)

A inoculação de frações do veneno botrópico também é capaz de promover diversas alterações locais em modelos experimentais. Estudos avaliando a ação local de SVMPs e PLA2 já demonstraram que essas toxinas podem induzir alterações teciduais importantes após inoculação intramuscular, além de estimular a síntese de moléculas inflamatórias, como interleucina 1β (IL- 1β) e interleucina 6 (IL-6), e de metaloproteases endógenas, gerando resposta inflamatória local (90).

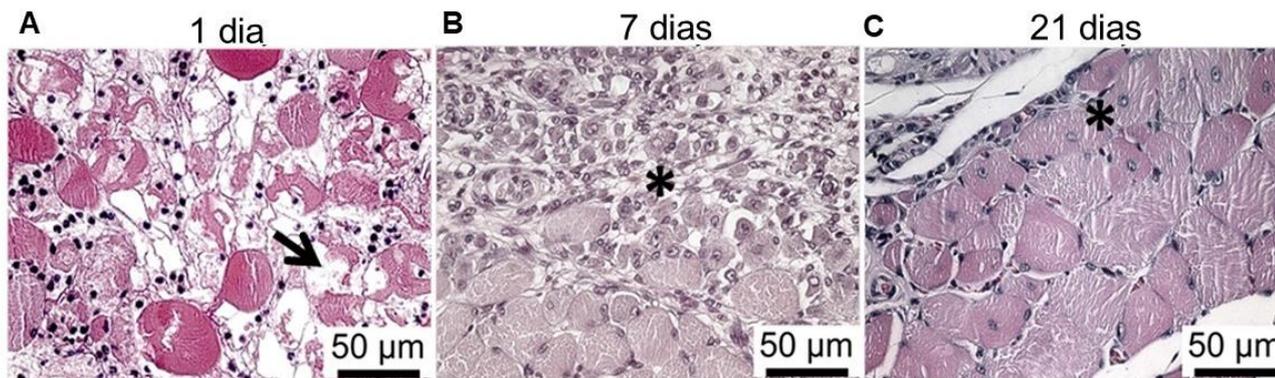


Figura 9. Morfologia da lesão e regeneração do músculo esquelético após envenenamento por *Bothrops atrox*. Inoculação de veneno bruto de *B atrox* (40ul) no músculo gastrocnêmio de camundongos. A amostra de tecido foi coletada 1, 7 e 21 dias após o envenenamento. (A) No dia 1, áreas de necrose podem ser observadas (setas). (B) Após 7 dias, são visíveis algumas áreas de células musculares regeneradas com núcleo central (*). (C) 21 dias pós envenenamento, fibras musculares regeneradas com núcleo central são observadas (*). Os cortes em parafina foram corados com hematoxilina e eosina (HE).

Fonte: Adaptado de Santos Barreto et al., 2017 (88)

Num rápido período, as SVMPs inoculadas em camundongos podem levar à formação de bolhas, possivelmente induzidas pela hidrólise direta de componentes da derme e junções derme-epiderme, resultando no destacamento da epiderme. A presença de sinais de inflamação, dermonecrose, processos hemorrágicos na hipoderme, deposição de coágulos de fibrina e exsudato também podem ser observados (Figuras 10 e 11) (91,92).

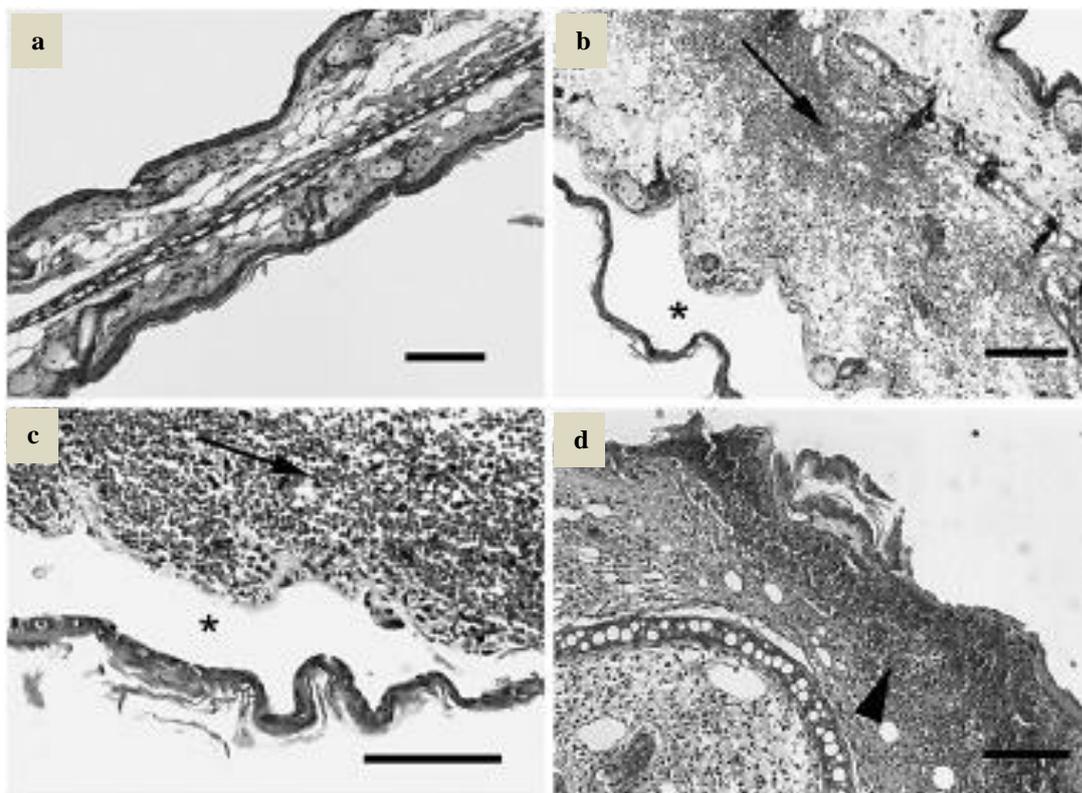


Figura 10. Alterações histológicas induzidas por BaP1, uma metaloprotease de *Bothrops asper*, na pele. Inoculação intradérmica de 20 μ l de PBS (a) ou 6 μ g de BaP1 diluídos em 20 μ l de PBS (b, c, d) na orelha de camundongos. (a) padrão histológico normal após 1 hora da injeção de PBS. (b) Após 1 hora e (c) 6 horas: edema proeminente, hemorragia (setas) e formação de bolha (*). (d) Após 24 horas: perda da epiderme, presença de infiltrado inflamatório (triângulo).

Fonte: Adaptado de Jiménez et al., 2008 (91)

Estudos *in vitro* demonstraram outras toxinas do veneno, como as LAAOs também possuem ação citotóxica, sendo capazes de induzir autofagia, seguida de apoptose e necrose em queratinócitos humanos. Ademais, experimentos *in vivo* com a inoculação dessa toxina em camundongos sugerem que ela pode estar envolvida na lesão tecidual local decorrente do envenenamento botrópico (42).

Em humanos, os poucos dados anatomopatológicos locais provêm, em sua maioria, de necropsias e apresentam padrões semelhantes aos estudos experimentais. A presença de focos hemorrágicos, áreas de necrose em diferentes camadas da pele e alterações nas fibras musculares consistentes com ação miotóxica do veneno estão entre os principais achados (93,94).

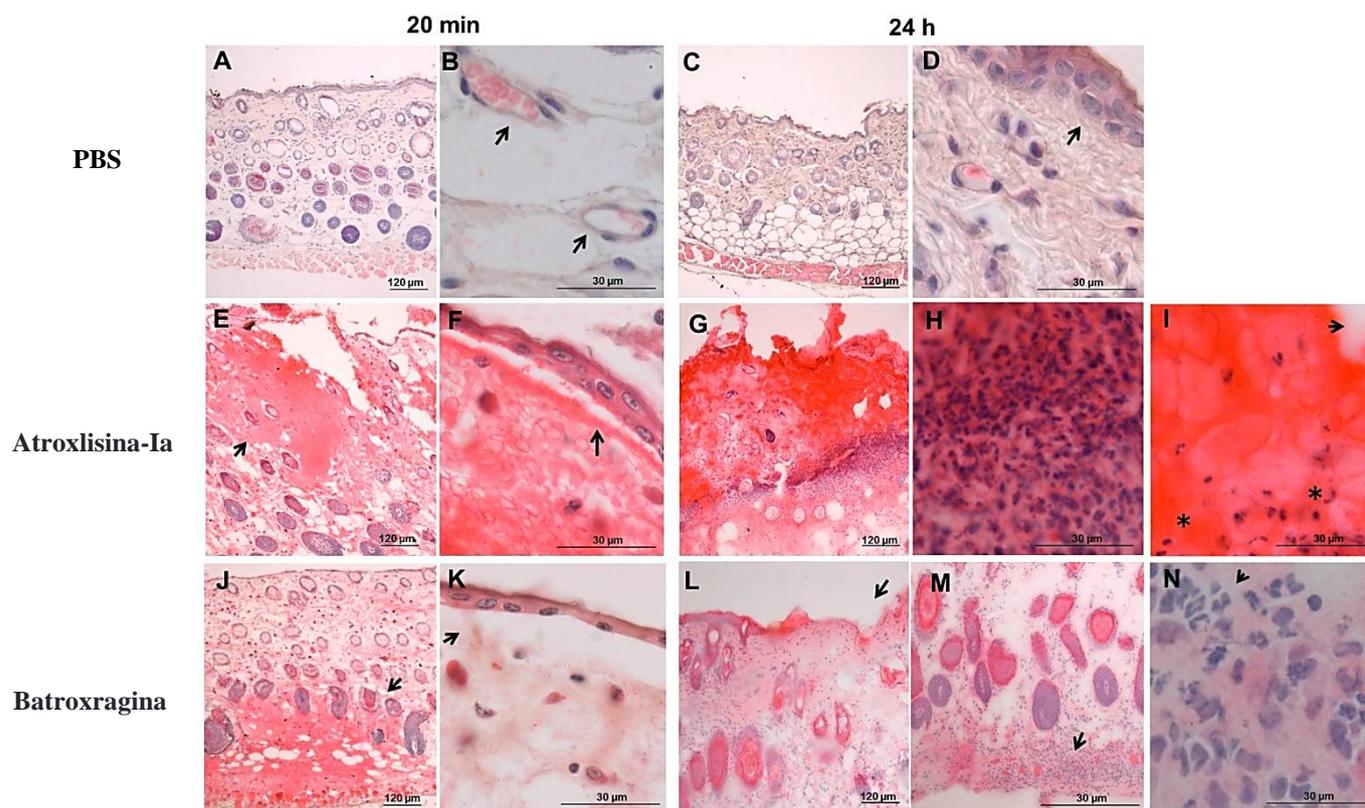


Figura 11. Ação de duas SVMP de *Bothrops atrox* (Atroxlisina-Ia e Batroxragina) na pele de camundongos. Inoculação de PBS (A, B, C, D), 10 µg de Atroxlisina-Ia (E, F, G, H, I) ou 10 µg de Batroxragina (J, K, L, M, N) avaliados 20 minutos e 24 horas pós-injeção. O grupo injetado com PBS demonstrou padrão histológico normal da pele (A, C), com capilares preservados (seta em B) e epiderme intacta (seta em D) em todos os momentos de avaliação. Após 20 minutos, o tecido inoculado com Atroxlisina-Ia apresentou hemorragia especialmente próximo à epiderme (seta em E) e a Batroxragina induziu hemorragia predominantemente na hipoderme (seta em J). Ambas as toxinas levaram ao destacamento da epiderme (setas em F e K). Com 24 horas, a Atroxlisina-Ia induziu uma lesão extensa na epiderme e derme (G), que evoluiu para necrose do tecido caracterizada por um intenso infiltrado inflamatório (H), depósito de coágulo (seta em I) e células com núcleos picnóticos (* em I), enquanto a Batroxragina induziu perda de epiderme (setas em L) e infiltrado inflamatório principalmente na hipoderme (setas em M e N).

Fonte: Adaptado de Freitas-de-Sousa et al., 2017 (92)

Assim, nota-se que o acesso a soroterapia, atualmente o único tratamento eficaz para os envenenamentos botrópicos, promove neutralização de manifestações ou complicações sistêmicas que possam acometer a vítima. Contudo, os danos locais teciduais, que são uma importante característica desses envenenamentos, nem sempre são evitados, mesmo com uso do soro. Essas lesões locais podem evoluir para complicações, gerar sequelas no paciente e impactar de forma relevante a vida dessas pessoas, física, emocional ou economicamente.

As investigações anatomopatológicas das lesões locais dos envenenamentos botrópicos em humanos podem ser de grande valia para a compreensão e esclarecimento de eventos inflamatórios endógenos que também participam desse agravo. Entender a evolução clínica e histopatológica do dano tecidual, a compatibilidade ou discordâncias entre ambos, e qual a influência que as condições inerentes aos envenenamentos ofídicos no contexto amazônico possivelmente exercem sobre esse agravo a nível microscópico pode abrir caminhos para o desenvolvimento e aplicação de inibidores que, se utilizados no local de inoculação do veneno interrompam, ou mesmo reduzam, a progressão do dano tecidual mais rapidamente.

Os estudos disponíveis atualmente são, em sua maioria, experimentais e as informações de achados anatomopatológicos em seres humanos ainda é escassa. Portanto, sendo este trabalho a primeira série de casos que relata dados histopatológicos de lesões locais, decorrentes de envenenamentos botrópicos em humanos, ele pode contribuir para a melhor compreensão desse agravo e o desenvolvimento de futuras técnicas que auxiliem o manejo clínico dos serviços de saúde, contribuindo para melhores desfechos dos pacientes acometidos.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Analisar as características epidemiológicas, clínicas, laboratoriais e histopatológicas em pacientes vítimas de acidente ofídico botrópico na Amazônia Brasileira;

2.2 Específicos

- Descrever as características epidemiológicas, clínicas e laboratoriais dos pacientes vítimas de acidente ofídico botrópico na Amazônia Brasileira;
- Caracterizar os aspectos histopatológicos presentes em pacientes vítimas de acidente ofídico botrópico na Amazônia Brasileira;
- Avaliar a evolução clínica dos pacientes vítimas de acidente ofídico botrópico na Amazônia Brasileira.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Desenho de Estudo

Trata-se de um estudo retrospectivo, observacional e descritivo dos aspectos epidemiológicos, clínicos e histopatológicos de uma série de 22 pacientes vítimas de acidente ofídico botrópico, atendidos na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) no período de agosto de 2014 a agosto de 2016.

3.2. População de Estudo

O presente trabalho foi realizado com dados de pacientes de acidentes ofídicos botrópicos que eram participantes do estudo “Baixa Eficácia do Uso Preemptivo da Amoxicilina/Clavulanato para Prevenção de Infecção Secundária em Acidentes Botrópicos na Amazônia Brasileira: Ensaio Clínico Controlado e Randomizado”, realizado na FMT-HVD entre agosto de 2014 a agosto de 2016.

3.3. Critérios de Elegibilidade

Foram incluídos os pacientes que participaram do estudo “Baixa Eficácia do Uso Preemptivo da Amoxicilina/Clavulanato para Prevenção de Infecção Secundária em Acidentes Botrópicos na Amazônia Brasileira: Ensaio Clínico Controlado e Randomizado” e que possuíam registro de requisição para biópsia nos seus dados clínicos.

Foram excluídos os pacientes que não apresentaram material biológico (lâminas de tecido e/ou bloco contendo amostra parafinada) disponível para análise histopatológica.

3.4. Amostragem

A amostragem foi composta por 22 pacientes de acidente ofídico botrópico que realizaram biópsia no estudo mencionado acima. Eles foram divididos em dois grupos, de acordo com o tempo entre o acidente e biópsia, para análises descritivas e comparativas. O

corde de tempo de 72 horas foi determinado porque neste período há o surgimento e/ou estabelecimento de alguns sinais clínicos ou complicações locais decorrentes do envenenamento botrópico, como bolhas, necrose ou infecções secundárias.

- **Grupo 1 (G1):** realizaram biópsia em menos de 72 horas decorridas do acidente ofídico.
- **Grupo 2 (G2):** biópsia realizada em 72 horas ou mais após ocorrência do acidente ofídico.

3.5. Dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais

Informações relativas ao sexo, idade, zona de residência do paciente e de ocorrência do acidente ofídico, região anatômica acometida, classificação do acidente quanto a gravidade, além do tempo ocorrido entre a picada/soroterapia foram coletadas para compor os dados epidemiológicos dos pacientes.

Para composição dos dados clínicos, foram reunidas informações acerca da presença de manifestações e/ou complicações sistêmicas (como sangramentos, distúrbios de coagulação, insuficiência renal), locais (edema, rubor, calor, eritema, equimose, cianose, sangramentos e secreções serosas perilesionais) e evolução clínica do paciente quanto ao desenvolvimento de complicações locais como necrose, bolhas ou infecção secundária (definida como a presença de celulite ou abscesso).

Os dados laboratoriais hematológicos (eritrograma, plaquetograma e leucograma), bioquímicos (creatinina quinase e desidrogenase láctica) e imunológicos (proteína c reativa) também foram compilados dos prontuários dos pacientes.

3.6. Análise histopatológica

As análises histopatológicas foram realizadas a partir de lâminas e blocos parafinados armazenados no laboratório multidisciplinar, alocado na gerência de anatomia patológica da FMT-HVD. Foram utilizadas seções coradas com hematoxilina-eosina (HE) e as variáveis consideradas na avaliação foram: alterações na epiderme (hiperceratose; acantose; exocitose;

espongiose; formação de bolhas; adelgaçamento e destacamento da epiderme), bem como na derme e hipoderme (extravasamento de hemácias; infiltrado inflamatório peri-neural, perivascular ou peri-anexial; presença de histiócitos, linfócitos, eosinófilos, outros granulócitos ou plasmócitos; edema, congestão; alterações de colágeno; vasculites; necrose e sinais de infecção).

Os procedimentos quanto á análise das lâminas se deu da seguinte forma: primeiro elas foram avaliadas quanto a qualidade para o processo de microscopia e aquelas que apresentaram algum problema de acondicionamento (crescimento fúngico, amarelamento de bálsamo do Canadá, formação de bolhas ou lâminas quebradas ou trincadas) ou as que não foram encontradas, tiveram seu material recortado. Quando necessário - devido a material com angulação ruim, parafina disforme ou derretida -, os blocos de parafina contendo material biológico foram submetidos ao processo de reinclusão e conseguinte recorte, também no laboratório multidisciplinar.

A reinclusão das amostras foi realizada conforme descrito abaixo e demonstrada na **Figura 12**.

- 1) Avaliar os blocos contendo material parafinado quanto a estrutura para o corte histológico. Blocos contendo deformações são reincluídos;
- 2) Colocar o cassete com bloco parafinado na placa quente para que ele derreta completamente;
- 3) Finalizado esse processo, selecionar o molde a ser utilizado de acordo com o tamanho do fragmento de tecido a ser reincluído e preencher este molde com parafina líquida aquecida.
- 4) Com o auxílio de uma pinça, pegar o fragmento de tecido e posicionar, cuidadosamente, no centro do molde citado anteriormente. Selecionar um cassete novo, devidamente identificado, e colocar a base dele sobre o molde de maneira que a parafina esteja em contato com o cassete, fixando bloco ali.
- 5) Levar o molde com esse material para a placa resfriada.
- 6) Quando o molde estiver completamente frio é o momento de retirar o bloco e preparar para o corte no micrótomo.
- 7) Fixar o bloco no micrótomo e acertá-lo para que sua superfície fique paralela à navalha do equipamento.

- 8) Cuidadosamente, retirar o excesso de parafina até alcançar o fragmento de tecido.
- 9) Realizar a microtomia com o auxílio de uma pinça, que permite melhor manipulação da fita formada a partir desse procedimento.
- 10) Retirar, com a pinça, a fita do micrótomo e levar até o banho maria, para que seja feita a expansão (“abertura”) da fita. Com uma lâmina limpa e identificada, coletar a fita contendo o corte histológico.
- 11) Levar a lâmina à estufa para retirar o excesso de parafina e melhorar a adesão do corte a lâmina.
- 12) Retirada da estufa, levar a lâmina para o processo de desparafinização (com xilol) e, em seguida, para hidratação (sequências de álcool em diferentes concentrações – 100%, 95%, 80%, 70% - e o último “banho” de água destilada).
- 13) Corar as lâminas com hematoxilina (20 minutos), desidratar com álcool 70% (1 minuto), corar com eosina (2 minutos), lavar rapidamente com álcool 95%, desidratar novamente em 3 banhos de álcool 100% (1 minuto para cada banho), clarificar em 3 banhos de xilol.
- 14) Finalizada essa etapa, gotejar bálsamo do Canadá na lâmina, cobrir com uma lamínula e esperar fixar.



Figura 12. Procedimento histotécnico de reinclusão e recorte da amostra.

Fonte: Autoral criado com BioRender.

3.7. Aspectos Éticos

O estudo do qual faz parte este projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade do Estado do Amazonas (CAAE: 19380913.6.0000.5016 e Número do Parecer: 492.892) (ANEXO 6.4) e da FMT-HVD (CAAE: 19380913.6.3001.0005 e Número do Parecer: 602.907-0) (ANEXO 6.3) e foi cadastrado no Registro Brasileiro de Ensaio

Clínicos (ReBec): RBR-3h33wy; UTN Number: U1111-1169-1005. Todos os pacientes do estudo principal, intitulado “Baixa Eficácia do Uso Preemptivo da Amoxicilina/Clavulanato para Prevenção de Infecção Secundária em Acidentes Botrópicos na Amazônia Brasileira: Ensaio Clínico Controlado e Randomizado”, receberam esclarecimentos quanto aos objetivos, riscos e benefícios da pesquisa. Os que concordaram em participar, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 6.5), ficando-lhes assegurado o caráter confidencial dos dados e o recebimento de uma cópia do TCLE contendo o telefone de contato e a assinatura do pesquisador responsável.

3.8. Análises de Dados e Estatísticas

As análises estatísticas dos dados laboratoriais e variáveis histopatológicas foram realizadas com os softwares *GraphPadPrism (v8.0)* e *Stata (v13.0)*. Para comparação entre frequências dos achados histopatológicos foi utilizado o teste exato de Fisher. Para os dados laboratoriais, inicialmente foram realizados testes para verificar normalidade dos dados através do teste de *Shapiro-Wilk*. As comparações de valores entre dois grupos de dados foram realizadas com teste *Mann-Whitney*. O nível de significância estatística definido foi de $p < 0,05$.

4. PRODUTO DA DISSERTAÇÃO

Os resultados deste trabalho serão apresentados no formato de artigo científico, conforme as normas do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical Dr Heitor Vieira Dourado. Pretende-se submeter o artigo à revista Toxicon, da editora Elsevier.

Alterações histológicas em pacientes de envenenamento ofídico botrópico na Amazônia Brasileira: Uma série de 22 casos.

Fabiane Bianca Albuquerque Barbosa^{1,2}; Hiochelson Najibe dos Santos Ibiapina^{1,2}; Rima de Souza Raad ¹, Monique Freire^{1,2}; Luiz Carlos de Lima Ferreira^{1,2}; Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett ^{1,2}; Wuelton Marcelo Monteiro^{1,2}; Allyson Guimarães Costa^{1,2,3,4*}

1. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brazil;
2. Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), Manaus, AM, Brazil;
3. Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil;
4. Escola de Enfermagem de Manaus, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil.

***Corresponding author:** Dr. Allyson Guimarães da Costa, Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil

Email: allyson.gui.costa@gmail.com

RESUMO

As manifestações clínicas dos envenenamentos botrópicos podem ir desde sangramentos sistêmicos a lesões locais graves, como a formação de bolhas, que podem evoluir para

complicações, tais quais infecção secundária e necrose. Na literatura, os relatos dos dados histopatológicos em humanos ainda são escassos, assim como a relação entre as lesões a nível microscópico e a evolução clínica dos pacientes. O objetivo deste estudo foi analisar as características epidemiológicas, clínicas, laboratoriais e histopatológicas em pacientes de envenenamento botrópico, bem como descrevê-las, caracterizar os aspectos histopatológicos presentes e avaliar a evolução clínica destes indivíduos. O estudo retrospectivo envolveu 22 pacientes de envenenamento botrópico, divididos em dois grupos de acordo com o dia que realizaram biópsia da lesão tecidual local (Grupo 1 - <72 horas pós acidente ofídico; Grupo 2 - ≥72 horas pós acidente), que possuíam material biológico disponível para análise. Os resultados demonstraram que características clínicas locais dos grupos G1 e G2 eram semelhantes em relação a presença de edema, eritema, equimose e sangramento local, enquanto apenas o G1 apresentou celulite e drenagem de exsudato e G2 evoluiu com abscesso. Quando avaliados em relação a gravidade o G1 apresentou pacientes leves, moderados e graves enquanto G2 tinha apenas casos graves e moderados. O sinal clínico semelhante em todos foi edema, enquanto eritema era comum nos casos moderados, e sinais de infecção secundária, além de bolhas e necrose, estavam presentes em pacientes graves. Quanto aos dados histopatológicos, ambos os grupos apresentaram alterações na epiderme como hiperqueratose, bolha (Grupo 1), acantose e espongiose (Grupo 2). Na classificação clínica, em pacientes moderados do G1 observou-se extravasamento eritrocitário, infiltrado inflamatório misto e vasculite, enquanto o G2 apresentou sinais de extravasamento eritrocitário, trombo de fibrina e abscesso. Os achados dos pacientes graves no G1 também foram extravasamento eritrocitário com infiltrado inflamatório e no G2 resultados semelhantes foram observados, além de homogeneização de colágeno e presença de fibroblastos ativados. A caracterização dos dados clínicos e histopatológicos é mais uma ferramenta que contribui para esclarecer os mecanismos do dano tecidual além de levantar questionamentos sobre a possibilidade de um manejo clínico personalizado e o uso de medicamentos adjuvantes como uma abordagem no cuidado dos pacientes de envenenamentos botrópicos

Palavras Chaves: Ofidismo, Envenenamento, *Bothrops*, Dano Tecidual Local, Histopatologia.

1. INTRODUÇÃO

Os envenenamentos ofídicos resultam da inoculação de toxinas do veneno de serpentes peçonhentas e são considerados um grave problema de saúde pública, principalmente em países dos continentes Asiático, Africano, Oceania e América Latina (1–3). Na Amazônia brasileira, o envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops* spp se destaca pelo grande número de acidentes notificados anualmente e atinge principalmente trabalhadores rurais que estão envolvidos no sustento familiar ou comunitário naquela região (4,5).

O envenenamento botrópico se caracteriza por uma série de efeitos sistêmicos, como alterações na hemostasia, e danos teciduais locais, que são a principal característica deste agravo. Esses danos podem ocorrer pela ação direta das toxinas do veneno no tecido, como também pela atividade inflamatória aguda promovida por tais componentes (6–9). Além disso, o surgimento de complicações locais como bolhas, necrose e infecção secundária é relativamente comum e podem causar danos permanentes na vítima de envenenamento (10–12).

As toxinas do veneno atuam principalmente degradando os componentes de matrix extracelular, causando danos na membrana basal dos capilares, na junção dermo-epidérmica dos tecidos e atuam em diferentes alvos do sistema de coagulação e na ativação de mediadores inflamatórios (8,13–15). Além disso, também possuem ação miotóxica e citotóxica no organismo (16).

A degradação tecidual local causada pelo veneno botrópico acarreta importantes alterações histológicas. Estudos realizados em modelo animal mostraram a ação do veneno na destruição do tecido muscular e nervos periféricos (16–18), além disso, a inoculação de frações do veneno, ou sua porção completa, na pele de camundongos demonstrou a ação rápida do na destruição de componentes da derme (19). Entretanto, estudos relatando essas alterações em humanos ainda são escassos e os dados disponíveis atualmente na literatura provêm, em sua maioria, de necropsias e tem o foco em lesões de órgãos como os rins (20,21).

Nesse estudo, descrevemos as alterações histológicas observadas numa série de 22 casos de envenenamento botrópico ocorridos na Amazonia brasileira, mostrando a relação

entre dados macro e microscópicos encontrados e sua possível influência na evolução clínica do paciente.

2. MÉTODOS

2.1 DESENHO DE ESTUDO

Estudo retrospectivo, observacional e descritivo dos aspectos epidemiológicos, clínicos e histopatológicos de uma série de pacientes vítimas de acidente ofídico botrópico, conduzido na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), onde os pacientes foram atendidos entre agosto de 2014 e agosto de 2016. A FMT-HVD é o centro de referência para o atendimento de acidentes ofídicos na cidade de Manaus, estado do Amazonas, Brasil. Este trabalho está inserido num projeto intitulado “Baixa Eficácia do Uso Preemptivo da Amoxicilina/Clavulanato para Prevenção de Infecção Secundária em Acidentes Botrópicos na Amazônia Brasileira: Ensaio Clínico Controlado e Randomizado”. Os dados clínicos foram obtidos mediante aprovação do projeto maior pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade do Estado do Amazonas (CAAE: 19380913.6.0000.5016 e Número do Parecer: 492.892) e da FMT-HVD (CAAE: 19380913.6.3001.0005 e Número do Parecer: 602.907-0). Os participantes leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Os procedimentos realizados estão de acordo com a Declaração de Helsinque e da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde para pesquisas envolvendo seres humanos.

2.2 POPULAÇÃO DE ESTUDO E AMOSTRAGEM

A população de estudo foi composta 22 pacientes que realizaram biópsia do local da picada e possuíam amostras biológicas armazenadas na FMT-HVD. Os 22 pacientes foram então divididos em dois grupos, de acordo com tempo ocorrido entre o acidente e a biópsia, para análises descritivas e comparativas: **Grupo 1 – G1** (biópsia realizada < 72 horas após acidente ofídico) e **Grupo 2 - G2** (biópsia realizada \geq 72 após ocorrência do acidente ofídico). O corte de tempo de 72 horas foi determinado porque neste período há o surgimento e/ou estabelecimento de alguns sinais clínicos ou complicações locais decorrentes do envenenamento botrópico, como bolhas, necrose ou infecções secundárias (**Figura 1**).

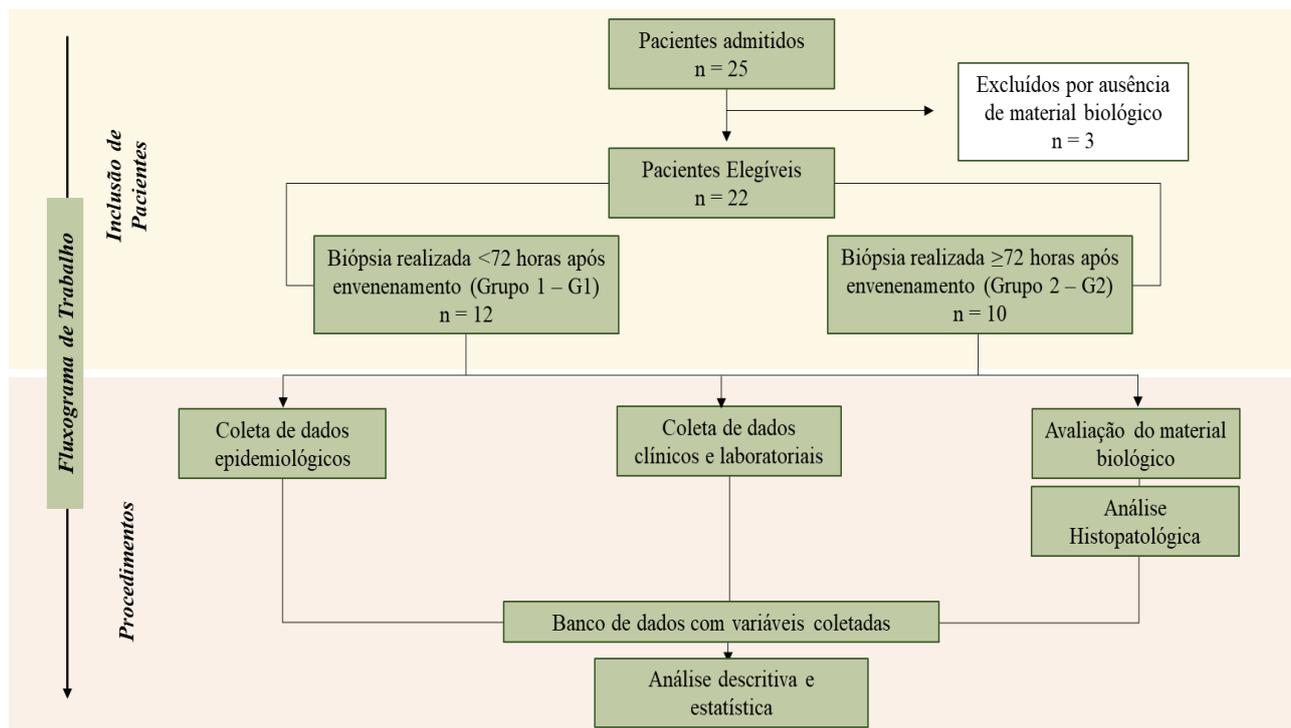


Figura 1. Fluxograma de trabalho. 22 pacientes foram elegíveis e divididos em dois grupos, de acordo com o dia de realização da biópsia: <72 horas (Grupo 1 – G1) and ≥72 horas (Grupo 2 – G2) após o envenenamento. Todos os dados epidemiológicos, clínicos, laboratoriais e histopatológicos foram coletados para análises descritivas e estatísticas posteriores.

2.3 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E LABORATORIAIS

Informações relativas ao sexo, idade, zona de residência do paciente e de ocorrência do acidente ofídico, região anatômica acometida, classificação do acidente quanto a gravidade, além do tempo ocorrido entre a picada/soroterapia foram coletadas para compor os dados epidemiológicos dos pacientes. Para composição dos dados clínicos, foram reunidas informações acerca da presença de manifestações e/ou complicações sistêmicas (como sangramentos, distúrbios de coagulação, insuficiência renal), locais (edema, rubor, calor, eritema, equimose, cianose, sangramentos e secreções serosas perilesionais) e evolução clínica do paciente quanto ao desenvolvimento de complicações locais como necrose, bolhas ou infecção secundária (definida como a presença de celulite ou abscesso). Os dados laboratoriais hematológicos (eritrograma, plaquetograma e leucograma), bioquímicos

(creatinina quinase e desidrogenase láctica) e imunológicos (proteína c reativa) também foram compilados dos prontuários dos pacientes.

2.4 DADOS HISTOPATOLÓGICOS

As análises histopatológicas foram realizadas utilizando lâminas e blocos parafinados armazenados no laboratório multidisciplinar, alocado na gerência de anatomia patológica da FMT-HVD. A análise histopatológica foi realizada a partir das seções coradas com hematoxilina-eosina (HE). As variáveis consideradas na avaliação foram: alterações na epiderme (hiperceratose; acantose; exocitose; espongirose; formação de bolhas; adelgaçamento e destacamento da epiderme), bem como na derme e hipoderme (extravasamento de hemácias; infiltrado inflamatório peri-neural, peri-vascular ou peri-anexial; presença de histiócitos, linfócitos, eosinófilos, outros granulócitos ou plasmócitos; edema, congestão; alterações de colágeno; vasculites; necrose e sinais de infecção).

2.5 ANÁLISE DOS DADOS

As análises estatísticas dos dados laboratoriais e variáveis histopatológicas foram realizadas com os softwares *GraphPadPrism* (v8.0) e *Stata* (v13.0). Para comparação entre frequências dos achados histopatológicos foi utilizado o teste exato de Fisher. Para os dados laboratoriais, inicialmente foi realizado o teste de *Shapiro-Wilk* a fim de verificar a normalidade dos dados. As comparações de valores entre dois grupos foram realizadas com teste *Mann-Whitney*. O nível de significância estatística definido foi de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

A **Tabela 1** traz um resumo das características clínico-epidemiológicas dos pacientes incluídos no estudo. A predominância dos envenenamentos foi no sexo masculino (77,2%), ocorrendo em zona rural (90,9%) e as principais regiões acometidas foram, respectivamente, os pés (31,8%), mãos (27,2%), pernas (22,7%) e tornozelos (18,1%). Em relação ao desenvolvimento de complicações locais, 11 indivíduos (50%) evoluíram com esse quadro.

Tabela 1. Resumo dos dados clínicos e epidemiológicos dos pacientes de envenenamento botrópico

Características	N = 22 (100%)
Masculino	17 (77,2%)
Feminino	5 (22,8%)
Idade mediana (IQR)	36 (22-52)
Zona de Ocorrência	
Rural	20 (90,9%)
Urbana	2 (9,1%)
Região Anatômica Acometida	
Mão	6 (27,2 %)
Perna	5 (22,7%)
Tornozelo	4 (18,1 %)
Pé	7 (31,8 %)
Complicação local	
Sim	11 (50%)
Não	11 (50%)

A **Tabela 2** descreve as características clínicas e epidemiológicas de cada paciente incluso no estudo. A mediana de idade dos pacientes foi de 36 anos (com variação entre 22 e 52 anos). Tempo entre o envenenamento e tratamento variou entre 01 e 20 horas, a maioria dos pacientes recebeu como classificação clínica envenenamento moderado e as regiões anatômicas mais atingidas foram os pés e as mãos. Os pacientes então foram divididos em grupos de acordo com o dia em que realizaram biópsia - Grupo 1 (G1) [Biópsia realizada em menos de 72 horas após envenenamento] e Grupo 2 (G2) [Biópsia realizada após 72 horas do envenenamento] – para fins de comparação descritiva entre as características clínicas e histopatológicas dos indivíduos.

A **Figura 2** relata os dados laboratoriais da série vermelha, branca, plaquetária e bioquímica dos pacientes - obtidos de amostras coletadas no dia da biópsia – que foram descritos nos grupos G1 (coluna verde) e G2 (coluna vermelha) para comparação entre os indivíduos e os níveis de normalidade representados pela faixa cinza.

Em relação aos parâmetros avaliados na série vermelha, ambos os grupos se apresentaram dentro da faixa de normalidade e o G1 apresentou valores mais elevados que o

G2. Para plaquetas e volume plaquetário médio (MVP), os dois grupos se apresentaram dentro dos níveis de normalidade, sendo que G2 apresentou um número de plaquetas e PCT mais elevado, enquanto o G1 exibiu valores de MVP ligeiramente mais baixos que G2.

Para a série branca, ambos os grupos exibiram valores de neutrófilos e linfócitos fora da faixa de normalidade. Em relação aos leucócitos totais (WBC), neutrófilos, linfócitos e monócitos, os valores no G1 se apresentaram mais elevados, enquanto o número de eosinófilos estava aumentado em G2 quando comparados a G1.

Quanto aos dados bioquímicos, todos os grupos estavam dentro da normalidade e os valores de proteína C reativa (PCR) e creatina quinase (CK) estavam aumentados em G1, enquanto níveis de desidrogenase láctica se apresentaram ligeiramente mais elevados no G2.

Tabela 2. Características clínicas e sociodemográficas dos pacientes de envenenamento botrópico

ID Pacientes	Sexo/Idade em anos	Tempo entre envenenamento e tratamento (horas)	Classificação clínica do acidente	Local da picada	Grupo	Tempo entre envenenamento e biópsia (horas)
AH_01	M/52	≅ 3h	Leve	Pé esquerdo	G1	24
AH_02	M/23	5h	Moderado	Tornozelo direito	G1	48
AH_03	F/26	3h	Moderado	Perna esquerda	G1	24
AH_04	M/63	3h	Leve	Pé esquerdo	G1	48
AH_05	M/19	2h	Moderado	Pé direito	G1	24
AH_06	F/18	4h	Moderado	Tornozelo direito	G1	24
AH_07	M/21	3h	Leve	Mão esquerda	G1	24
AH_08	M/22	4h	Grave	Tornozelo direito	G1	48
AH_09	F/58	≅ 16h	Moderado	Tornozelo direito	G1	48
AH_10	M/56	≅ 1h	Moderado	Perna esquerda	G1	24
AH_11	M/27	1h	Moderado	Pé esquerdo	G1	48
AH_12	M/36	1h	Moderado	Mãos (ambas)	G1	48
AH_13	M/21	4h	Moderado	Pé esquerdo	G2	96
AH_14	F/29	5h	Grave	Mão direita	G2	192
AH_15	M/38	≅ 2h	Moderado	Pé esquerdo	G2	96
AH_16	M/50	1h	Moderado	Perna esquerda	G2	72
AH_17	M/46	2h	Moderado	Mão esquerda	G2	72
AH_18	M/36	≅ 6h	Grave	Mão esquerda	G2	72
AH_19	M/59	≅ 6h	Moderado	Perna direita	G2	72
AH_20	M/28	3h	Moderado	Pé esquerdo	G2	120
AH_21	F/57	≅ 20h	Moderado	Mão direita	G2	96
AH_022	M/21	4h	Moderado	Perna esquerda	G2	96

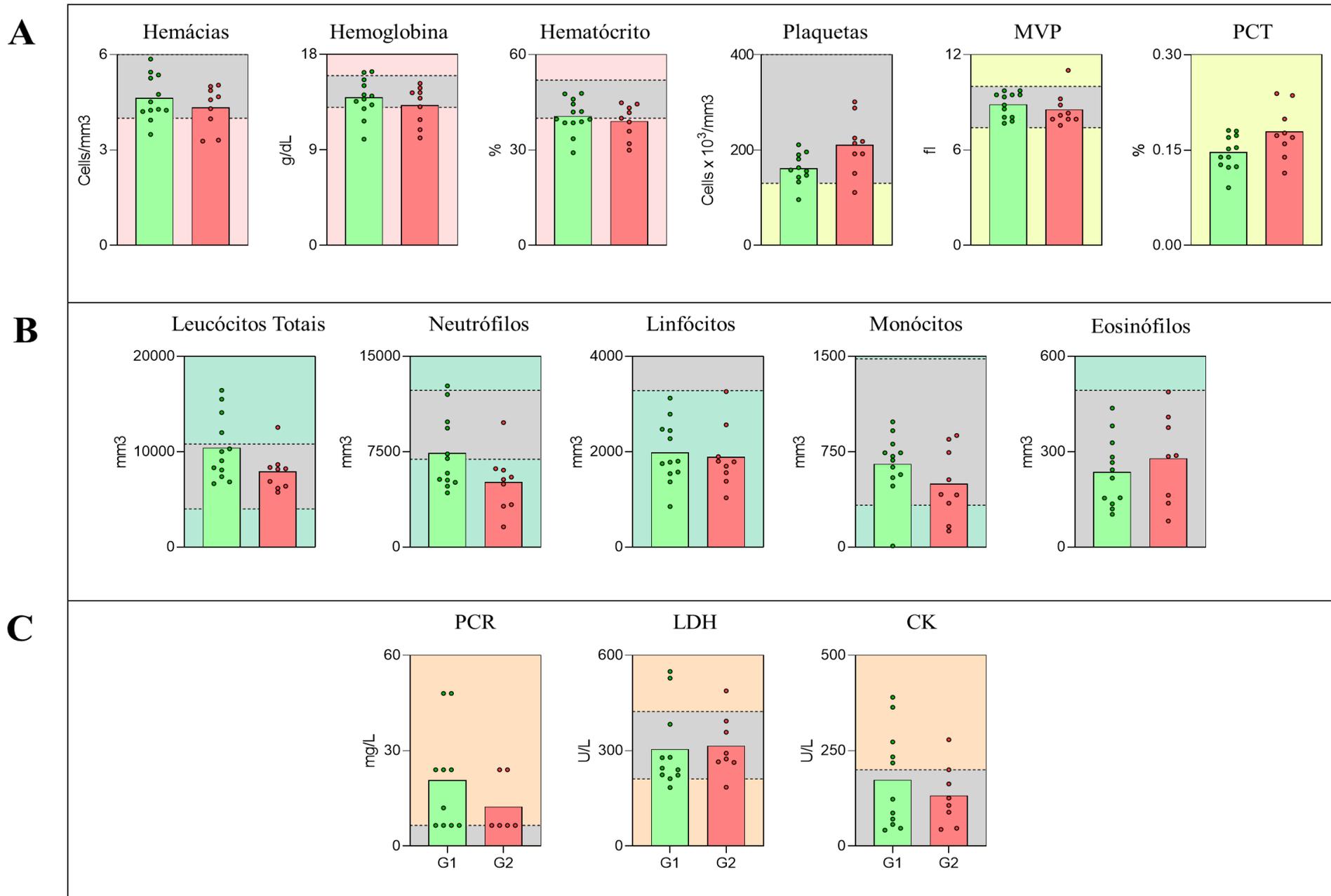


Figura 2. Achados laboratoriais dos pacientes de envenenamento botrópico. Comparação de dados da série vermelha (A), branca (B) e bioquímicos (C) dos grupos 1 e 2 (G1 e G2 respectivamente), obtidos de exames realizados no dia da biópsia, entre si e em relação aos valores de normalidade (faixa cinza). Foi considerado significativo $p < 0.05$.

MVP: Volume Plaquetário Médio; PCR: Proteína C Reativa; LDH: Desidrogenase Láctica; CK: Creatinoquinase.

Um resumo das características do local da picada de cada grupo foi descrito na **Tabela 3**. Em ambos os grupos, a maioria dos pacientes desenvolveu sinais de edema [G1 (83,3%), G2 (80%)] e outros sinais clínicos também estiveram presentes em menor número: eritema [G1 (8,3%), G2 (20%)], equimose [G1 (33,3%), G2 (10%)], sangramento local [G1 (33,3%), G2 (20%)], bolhas [G1 (25%), G2 (30%)] e cianose [G1 (8,3%), G2 (10%)]. Apenas indivíduos do G1 apresentaram celulite (8,3%) e drenagem de exsudato (8,3%) e somente pacientes do G2 evoluíram com abscesso (10%).

Tabela 3. Achados clínicos locais dos pacientes de envenenamento botrópico.

Características	G1 N = 12	G2 N = 10	P valor
Clínica			
Edema			
Sim/Não, n (%)	10 (83) / 2 (17)	8 (80) / 2 (20)	0.999
Eritema			
Sim/Não, n (%)	1 (8) / 11 (92)	2 (20) / 8 (80)	0.571
Equimose			
Sim/Não, n (%)	4 (33) / 8 (67)	1 (10) / 9 (90)	0.323
Sangramento local			
Sim/Não, n (%)	4 (33) / 8 (67)	2 (20) / 8 (80)	0.646
Bolha			
Sim/Não, n (%)	3 (25) / 9 (75)	3 (30) / 7 (70)	0.999
Necrose			
Sim/Não, n (%)	3 (25) / 9 (75)	1 (10) / 9 (90)	0.594
Cianose			
Sim/Não, n (%)	1 (8) / 11 (92)	1 (10) / 9 (90)	0.999
Abscesso			
Sim/Não, n (%)	0 (0) / 12 (100)	1 (10) / 9 (90)	0.454
Celulite			
Sim/Não, n (%)	1 (8) / 11 (92)	0 (0) / 10 (100)	0.999
Drenagem de exsudato			
Sim/Não, n (%)	1 (8) / 11 (92)	0 (0) / 10 (100)	0.999

Quando analisados em relação à gravidade do envenenamento (**Figura 3**), o G1 apresentou pacientes classificados em leve/moderado e grave, enquanto o G2 tinha apenas pacientes moderados e graves. As manifestações clínicas características do grupo leve (**A**) consistiam basicamente em edema local. Enquanto nos pacientes moderados do G1 (**B**),

edema e eritema eram mais comuns e no G2 (**D**) além destes sinais, a presença de abscesso também foi relatada. Nos indivíduos classificados como graves no G1 (**C**) edema extenso, eritema e sinais de infecção secundária, como celulite eram encontrados, e no G2 (**E**), os mesmos sinais podiam ser notados, como também a formação de bolhas e presença de necrose no membro anatômico acometido.



Figura 3. Manifestações locais presentes nos pacientes de envenenamento botrópico, dos grupos 1 e 2, distribuídas de acordo com a classificação do acidente em leve, moderado e grave. **A.** Paciente do grupo 1, com acidente classificado em leve, apresentando edema local no pé esquerdo consequente à picada que ocorreu entre o terceiro e quarto pododáctilos. **B.** Paciente moderado com lesão puntiforme, edema e eritema no tornozelo direito 4 dias após o envenenamento e 2 dias após a biópsia. **C.** Paciente grave com lesão puntiforme, edema, que chegou até o terço inferior da coxa, eritema e celulite no pé direito. **D.** Paciente do grupo 2, com acidente classificado em moderado, apresentando edema, vermelhidão e abscesso no dorso do pé esquerdo. **E.** Paciente grave com edema intenso, que progrediu para todo o membro superior direito, formação de bolhas e necrose na mão direita. Evoluiu para infecção secundária com posterior drenagem de abscesso.

Informações sobre as características histopatológicas, de acordo com cada grupo foram descritas na **Tabela 4**, sendo classificadas em alterações na epiderme e na derme/hipoderme. Na epiderme, 1 paciente do G1 apresentou bolha (8,3%), enquanto no G2 3 pacientes apresentaram acantose (30%) e 4 tiveram espongiose (40%), sendo que este último

dado obteve significância estatística quando comparado ao G1. Em ambos os grupos, 3 pacientes tiveram hiperqueratose [G1 (33,3%), G2 (30%)] e 2 apresentaram outras alterações [G1 (16,7%), G2 (20%)] (**Tabela 4**).

Em relação a derme/hipoderme, nos dois grupos foi relatado extravasamento eritrocitário [G1 (75%), G2 (60%)], trombos de fibrina [G1 (25%), G2 (10%)], infiltrado inflamatório [G1 (66,7%), G2 (50%)], presença de granulócitos [G1 (25%), G2 (30%)], neutrófilos [G1 (41,7%), G2 (50%)], histiócitos [G1 (50%), G2 (50%)], eosinófilos [G1 (41,7%), G2 (70%)], linfócitos [G1 (41,7%), G2 (60%)] e outras células mononucleares [G1 (25%), G2 (10%)]. Além disso, a presença de vasculite [G1 (16,7%), G2 (10%)] também foi relatada. Necrose fibrinóide (33,3%) foi relatado apenas no G1, enquanto edema (30%), congestão (30%), abscesso (20%), hialinização (20%) e lise (20%) de colágeno foram achados presentes apenas no G2 (**Tabela 4**).

Tabela 4. Achados histopatológicos em pacientes de envenenamento botrópico

Características	G1 N = 12	G2 N = 10	P valor
<i>Epiderme</i>			
Bolha			
Sim/Não, n (%)	1 (8) / 11 (92)	0 (0) / 10 (100)	0.999
Espongiose			
Sim/Não, n (%)	0 (0) / 12 (100)	4 (40) / 6 (60)	0.028
Acantose			
Sim/Não, n (%)	0 (0) / 12 (100)	3 (30) / 7 (70)	0.077
Hiperqueratose			
Sim/Não, n (%)	4 (33) / 8 (67)	3 (30) / 7 (70)	0.999
Outros			
Sim/Não, n (%)	2 (17) / 10 (83)	2 (20) / 8 (80)	0.999
<i>Derme e Hipoderme</i>			
Extravasamento eritrocitário			
Sim/Não, n (%)	9 (75) / 3 (25)	6 (60) / 4 (40)	0.651
Necrose fibrinóide			
Sim/Não, n (%)	4 (33) / 8 (67)	0 (0) / 10 (100)	0.094
Trombo de fibrina			
Sim/Não, n (%)	3 (25) / 9 (75)	1 (10) / 9 (90)	0.594
Infiltrado inflamatório			
Sim/Não, n (%)	8 (67) / 4 (33)	5 (50) / 5 (50)	0.665
Granulócitos			

Sim/Não, n (%)	3 (25) / 9 (75)	3 (30) / 7 (70)	0.999
Neutrófilos			
Sim/Não, n (%)	5 (42) / 7 (58)	5 (50) / 5 (50)	0.999
Histiócitos			
Sim/Não, n (%)	6 (50) / 6 (50)	5 (50) / 5 (50)	0.999
Eosinófilos			
Sim/Não, n (%)	5 (42) / 7 (58)	7 (70) / 3 (30)	0.230
Linfócitos			
Sim/Não, n (%)	5 (42) / 7 (58)	6 (60) / 4 (40)	0.669
Células mononucleares			
Sim/Não, n (%)	3 (25) / 9 (75)	1 (10) / 9 (90)	0.594
Edema			
Sim/Não, n (%)	0 (0) / 12 (100)	3 (30) / 7 (70)	0.077
Congestão			
Sim/Não, n (%)	0 (0) / 12 (100)	3 (30) / 7 (70)	0.077
Abscesso			
Sim/Não, n (%)	0 (0) / 12 (100)	2 (20) / 8 (80)	0.194
Hialinização de colágeno			
Sim/Não, n (%)	0 (0) / 12 (100)	2 (20) / 8 (80)	0.194
Lise de colágeno			
Sim/Não, n (%)	0 (0) / 12 (100)	2 (20) / 8 (80)	0.194
Vasculite			
Sim/Não, n (%)	2 (17) / 10 (83)	1 (10) / 9 (90)	0.999
Outros			
Sim/Não, n (%)	1 (8) / 11 (92)	4 (40) / 6 (60)	0.135

Ao realizar uma comparação entre os achados clínicos e histopatológicos dos pacientes moderados e graves de ambos os grupos, observou-se que indivíduos classificados em moderado no G1 (**A**) apresentaram características clínicas como edema e eritema, e histopatológicas tais quais extravasamento eritrocitário, infiltrado inflamatório misto (com presença de neutrófilos, eosinófilos e células mononucleares), além de vasculite; enquanto o G2 (**C**) mostrou sinais de edema, eritema e abscesso na análise macroscópica, além de extravasamento eritrocitário, trombo de fibrina e abscesso dentre os achados histopatológicos (**Figura 4**).

Para os pacientes classificados em graves do G1 (**B**), os sinais clínicos presentes foram edema extenso, eritema e sinais de infecção secundária, como celulite, enquanto os achados microscópicos foram extravasamento de hemácias com infiltrado inflamatório na derme profunda. No G2 (**D**), foram relatados edema extenso, sinais de infecção secundária, formação

de bolhas e necrose no membro afetado, em relação aos achados histopatológicos, denso infiltrado inflamatório, constituído por granulócitos e células mononucleares, homogeneização de colágenos foram observados, além da presença de fibroblastos ativados indicando reparação tecidual na derme profunda (**Figura 4**).

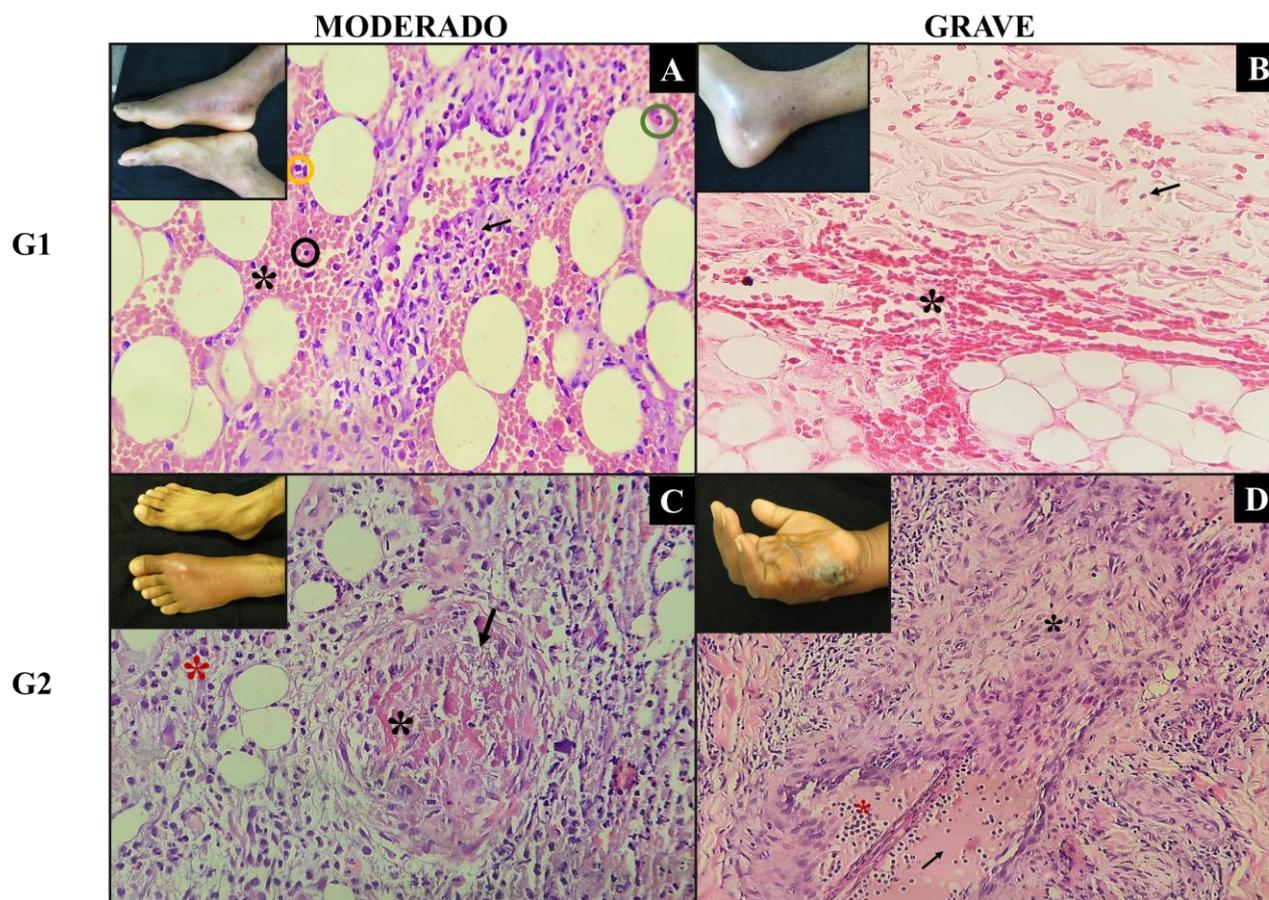


Figura 4. Comparativo entre os achados clínicos e histopatológicos dos grupos 1 e 2, considerando a classificação do acidente em moderado e grave. **A.** Paciente moderado cuja biópsia foi realizada 2 dias após o envenenamento. Apresenta extravasamento de hemácias (asterisco preto) na hipoderme, infiltrado inflamatório misto - constituído por neutrófilos, eosinófilos e células mononucleares (círculos amarelo, verde e preto, respectivamente) - e vasculite (seta em preto). **B.** Extravasamento de hemácias (asterisco) e presença de células inflamatórias (seta em preto) na derme profunda em biópsia após 2 dias do envenenamento. **C.** Paciente moderado do grupo 2, cuja a biópsia foi realizada 5 dias pós envenenamento, apresenta denso infiltrado inflamatório (asterisco vermelho), extravasamento de hemácias, trombo de fibrina (asterisco preto) e abscesso na hipoderme (seta em preto). **D.** Paciente do grupo 2, com acidente classificado em grave e biópsia realizada 8 dias após o envenenamento, apresentando denso infiltrado inflamatório (asterisco vermelho) constituído por células mononucleares e granulócitos, fibroblastos ativados (asterisco preto) indicando reparação tecidual e homogeneização de colágeno (seta em preto) na derme profunda. (Todas as lâminas receberam coloração hematoxilina e eosina. O aumento original de todas as imagens foi de x400).

4. DISCUSSÃO

Os envenenamentos ofídicos constituem um grave e negligenciado problema de saúde pública na Amazonia brasileira. De acordo com estudos epidemiológicos conduzidos nessa região, esse agravo atinge principalmente moradores de áreas rurais, em sua maioria homens com idade considerada produtiva (entre 16 e 50 anos), dados que corroboram com o perfil epidemiológico encontrado em nosso estudo, que relatou resultados semelhantes (5,22).

Além disso, observamos que os membros inferiores foram os principais acometidos e metade dos pacientes incluídos evoluíram com algum tipo de complicação, achados que também já foram descritos na literatura e que podem estar relacionados a fatores como o tempo ocorrido entre a picada e o tratamento com o soro antiofídico (23), uma vez que uma particularidade da região amazônica é a dificuldade de acesso aos centros de referência para tratamento de acidentes ou envenenamentos ofídicos (24,25).

Vale destacar também que uma grande parte dos envenenamentos ofídicos ocorre quando o indivíduo está desempenhando alguma atividade laboral, portanto a necessidade de interromper o trabalho devido às circunstâncias do envenenamento, principalmente devido ao surgimento de complicações, conseqüente tempo de internação aumentado, e possível desenvolvimento de sequelas, causam um impacto econômico importante na vítima, consolidando a afirmação de que o envenenamento ofídico não apenas está relacionado a pobreza, como também a perpetua (22,26,27).

Envenenamentos botrópicos são caracterizados por diversas alterações sistêmicas e locais. Composto principalmente por metaloproteases, serinoproteases e fosfolipases A2, o veneno de serpentes do gênero *Bothrops* promove alterações na hemostasia e degradação tecidual local, pela ação nos componentes da matrix extracelular e membrana basal, além da indução de processos inflamatórios (7,28,29). Dessa forma, alterações laboratoriais são comuns neste tipo de agravo e podem, frequentemente, refletir a gravidade clínica do paciente. Nossos resultados apresentaram diminuição nos valores de alguns leucócitos em pacientes do grupo 2, cujo tempo de internação foi maior, um possível indicativo de gravidade clínica nesses indivíduos. Parâmetros da série vermelha também tendem a diminuir em pacientes mais graves, como um reflexo do sangramento intenso conseqüente ao envenenamento, um achado que também observamos em nosso estudo, onde os valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócritos encontravam-se ligeiramente mais baixos do G2. (30)

Quanto aos valores de plaquetas, alguns estudos concluíram que uma plaquetopenia inicial poderia estar relacionada ao sangramento local e sistêmico exacerbado ocorrido após os eventos do envenenamento, mas que a contagem de plaquetas normalizaria, com o passar do tempo, após administração do antiveneno. Essa informação corrobora com nossos achados, uma vez que os pacientes do G1, com menor tempo de internação, apresentaram número de plaquetas reduzido, embora ainda se mantivessem dentro dos valores de normalidade, em comparação aos pacientes de internação mais prolongada (G2). Além disso, pode-se especular que alterações plaquetárias reportadas nos pacientes estejam relacionadas à presença de achados microscópicos nos pacientes mais graves, como a formação de micro trombos na derme e hipoderme (6,21,31,32).

Alterações nos parâmetros de bioquímica como proteína C reativa, desidrogenase láctica (LDH) e creatina quinase (CK) são achados relativamente comuns nos envenenamentos botrópicos, devido a destruição tecidual a nível local e sistêmico causada pelas toxinas do veneno, além da influência de complicações clínicas.

Em nossos dados, tais alterações encontradas podem refletir o nível de inflamação aguda nos pacientes, principalmente nas primeiras horas após envenenamento, resultados corroborados por Barraviera e colaboradores (1995), que demonstraram o aumento de proteína c reativa (PCR) de acordo com o curso de tempo em pacientes de envenenamento ofídico, nos quais os picos de PCR aumentada ocorreram entre 1 e 2 dias após o envenenamento botrópico. Além disso, estudos realizados no estado do Amazonas demonstraram que altos níveis de LDH e CK já podem ser encontrados nos primeiros momentos após o envenenamento, e o aumento de LDH poderia refletir o dano tecidual em pacientes mais graves, resultados semelhantes aos nossos (11,33,34).

As lesões teciduais locais são características dos envenenamentos botrópicos. Podem se apresentar desde achados comuns como dor, edema, calor e rubor, sinais clássicos de inflamação aguda, até alterações mais graves como bolhas, infecção secundária e necrose. Em nosso estudo, compilamos as manifestações locais de todos os pacientes incluídos e estes resultados estão de acordo com dados já reportados em estudos clínicos realizados no Acre e no Amazonas, nos quais a *Bothrops atrox* foi a serpente causadora dos envenenamentos, em que dor e edema se apresentaram em mais de 40% dos casos (11). A presença de bolhas também foi observada em 10.2% dos pacientes, além de infecção secundária (9%) e necrose em 2.5% dos casos (11,35–37).

Quando analisamos as manifestações locais em relação a gravidade do envenenamento, pode-se observar que alguns sinais se repetem em diferentes classificações clínicas, como a presença de edema, mas que há uma mudança na intensidade desses sinais e sintomas no indivíduo. Ademais, o surgimento de complicações como bolhas, infecções secundárias e presença de necrose pode ocorrer em envenenamentos de classificação moderada e grave, com a chance de agravar ainda mais o quadro do paciente (10,38–40). Tais informações entram em acordo com os nossos achados, em que os pacientes classificados em grave apresentaram alterações teciduais comuns a casos leves, como edema e eritema, contudo, também evoluíram com complicações locais, diferentemente dos casos leves, necessitando permanecer internados por um maior período e de manejo diferenciado da lesão local.

Do ponto de vista histológico, nosso estudo é o primeiro a descrever, numa série de casos, dados da lesão tecidual local de pacientes de envenenamentos botrópicos. Dentre as alterações relatadas na epiderme, as principais são hiperqueratose, presente em todos os pacientes, além de acantose e espongiose em pacientes que passaram mais tempo internados (G2). No caso da hiperqueratose, a frequência desse achado pode estar relacionada tanto ao envenenamento quanto aos hábitos dos pacientes, uma vez que muitos deles trabalham no campo e o desgaste gerado por esse tipo de atividade, pode levar ao aumento no estrato córneo da pele (41).

Estudos *in vitro* e em modelo animal já relataram, respectivamente, o efeito citotóxico de componentes do veneno em queratinócitos humanos e na destruição de matrix extracelular que forma a junção dermoepidérmica (19,42,43). Dessa forma, a presença de acantose pode estar relacionada à hiperproliferação dos queratinócitos em resposta aos processos do envenenamento, semelhantemente ao que ocorre em outras patologias como, por exemplo, a psoríase (44,45).

A formação de espongiose ocorre, provavelmente, pelo aumento de permeabilidade vascular causado pela liberação de mediadores inflamatórios após destruição de matrix extracelular e o surgimento de bolhas subepidérmica se dá, principalmente, pela destruição de componentes da membrana basal que ligam epiderme e derme, conforme já reportado em estudos experimentais utilizando veneno botrópico, em outros casos de envenenamentos e também em algumas doenças autoimunes (7,19,29,46,47).

Em relação as alterações de derme e hipoderme, dados na literatura apontam que o extravasamento de hemácias e influxo de leucócitos, causando infiltrado inflamatório no tecido, são comuns em estudos de modelo animal. Tais achados corroboram com os nossos resultados, nos quais os pacientes apresentaram uma alta frequência dessas alterações. Essas alterações ocorrem a partir da hidrólise de componentes da membrana basal dos capilares sanguíneos que, aliados as forças biofísicas normais, promovem a destruição deles. Além disso, o processo inflamatório consequente ao envenenamento, contribui para o acúmulo de leucócitos *in situ* e pode contribuir com os efeitos deletérios locais (12,13,43,48–50).

Modificações de colágeno, como lise e hialinização, que também foram relatadas em nosso estudo, podem ser resultado da ação direta do veneno como também a atuação de proteinases endógenas, principalmente as metaloproteinases de matrix (MMPs), que participam de processos fisiológicos, mas podem ter sua ativação aumentada devido a inflamação resultante do dano tecidual induzido pelo envenenamento. Além disso, outras alterações relacionadas aos vasos capilares como a presença de vasculites, necrose fibrinóide e trombos de fibrina pode ter origem no processo inflamatório agudo e a deposição de fibrina como na coagulopatia, que são fenômenos característicos aos envenenamentos (9,48,51,52).

A análise entre os achados clínicos e microscópicos em casos de envenenamentos deste estudo aponta semelhanças entre a histopatologia em diferentes classificações clínicas. Dessa forma, sugerimos que a apresentação macroscópica dos sinais de envenenamento não necessariamente reflete os dados histopatológicos. Essa concordância entre achados é importante para fechar o diagnóstico em outros tipos de agravos (53,54). Contudo, no caso dos envenenamentos botrópicos, se levarmos em consideração as particularidades de acidente e dos pacientes, essa concordância talvez não seja primordial, e o ideal seria avaliar as características de cada caso individualmente.

É importante destacar que devido sua natureza retrospectiva, este estudo apresenta algumas limitações como a ausência de um registro adequado e padronizado dos exames laboratoriais, imagens com as informações clínicas dos pacientes, razões pelas quais não foi possível obter com precisão alguns detalhes sobre a evolução da lesão nestes indivíduos. Além disso, não foi possível obter informações sobre as serpentes causadoras do envenenamento, como sexo e idade destes animais, que podem influenciar no curso clínico do paciente. Contudo, os resultados aqui apresentados podem auxiliar na compreensão das lesões locais a nível clínico e histológico e servir como base para futuros estudos de desenho

retrospectivo com melhor controle das variáveis desejadas e uma investigação direcionada detalhada sobre a evolução clínica dos pacientes.

5. CONCLUSÃO

Os envenenamentos botrópicos tem como principal característica a lesão tecidual local que contribui para a classificação do envenenamento, sendo o surgimento de complicações locais como bolhas e infecção secundária um agravante para o paciente. Do ponto de vista clínico, as manifestações locais possuem suas semelhanças e particularidades, que nem sempre refletem os achados histopatológicos dentro do mesmo paciente. Portanto, repensar sobre a classificação dos envenenamentos e a possibilidade de um manejo personalizado, além do uso de medicações adjuvantes ao soro, poderia ser uma nova abordagem no cuidado dos pacientes de envenenamentos ofídicos.

Acknowledgements

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest in this study.

Author's Contribution: FBAB, HNSI, JAGS, WMM and AGC conceived the idea and designed the study, analyzed data, and wrote the manuscript. FBAB, HNSI, MF, RSR, LCLF and AGC analyzed data and performed experiments. JAGS, WMM, HNSI and AGC revised the manuscript. FBAB, HNSI, MF, LCLF, RSR, JAGS, WMM and AGC, conceived and supervised the project, designed the experiments, interpreted the data, wrote, and revised the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

References

1. Warrell DA. Snake bite. Lancet [Internet]. 2010;375(9708):77–88. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61754-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61754-2)
2. Gutiérrez JM, Calvete JJ, Habib AG, Harrison RA, Williams DJ, Warrell DA. Snakebite envenoming. Nat Rev Dis Prim. 2017;3(1).
3. Longbottom J, Shearer FM, Devine M, Alcoba G, Chappuis F, Weiss DJ, et al.

- Vulnerability to snakebite envenoming: a global mapping of hotspots. *Lancet*. 2018;392(10148):673–84.
4. Monteiro WM, Contreras-Bernal JC, Bisneto PF, Sachett J, Mendonça da Silva I, Lacerda M, et al. Bothrops atrox, the most important snake involved in human envenomings in the amazon: How venomics contributes to the knowledge of snake biology and clinical toxinology. *Toxicon X*. 2020;6.
 5. Magalhães SFV, Peixoto HM, Moura N, Monteiro WM, De Oliveira MRF. Snakebite envenomation in the Brazilian Amazon: A descriptive study. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2019;113(3):143–51.
 6. Oliveira SS, Alves EC, Santos AS, Pereira JPT, Sarraff LKS, Nascimento EF, et al. Factors associated with systemic bleeding in bothrops envenomation in a tertiary hospital in the brazilian amazon. *Toxins (Basel)*. 2019;11(1).
 7. Gutiérrez JM, Rucavado A, Chaves F, Díaz C, Escalante T. Experimental pathology of local tissue damage induced by Bothrops asper snake venom. *Toxicon*. 2009;54(7):958–75.
 8. De Almeida MT, Freitas-De-Sousa LA, Colombini M, Gimenes SNC, Kitano ES, Faquim-Mauro EL, et al. Inflammatory reaction induced by two metalloproteinases isolated from bothrops atrox venom and by fragments generated from the hydrolysis of basement membrane components. *Toxins (Basel)*. 2020;12(2).
 9. Moreira V, Dos-Santos MC, Nascimento NG, da Silva HB, Fernandes CM, D'Império Lima MR, et al. Local inflammatory events induced by Bothrops atrox snake venom and the release of distinct classes of inflammatory mediators. *Toxicon [Internet]*. 2012;60(1):12–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.03.004>
 10. Gimenes SNC, Sachett JAG, Colombini M, Freitas-De-sousa LA, Ibiapina HNS, Costa AG, et al. Observation of bothrops atrox snake envenoming blister formation from five patients: Pathophysiological insights. *Toxins (Basel)*. 2021;13(11):1–13.
 11. Sachett JAG, da Silva IM, Alves EC, Oliveira SS, Sampaio VS, do Vale FF, et al. Poor efficacy of preemptive amoxicillin clavulanate for preventing secondary infection from Bothrops snakebites in the Brazilian Amazon: A randomized controlled clinical trial. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(7):1–21.
 12. Herrera C, Macêdo JKA, Feoli A, Escalante T, Rucavado A, Gutiérrez JM, et al. Muscle Tissue Damage Induced by the Venom of Bothrops asper: Identification of Early and Late Pathological Events through Proteomic Analysis. *PLoS Negl Trop Dis*

[Internet]. 2016;10(4):1–22. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0004599>

13. Gutiérrez JM, Escalante T, Rucavado A, Herrera C, Fox JW. A comprehensive view of the structural and functional alterations of extracellular matrix by snake venom metalloproteinases (SVMPs): Novel perspectives on the pathophysiology of envenoming. *Toxins (Basel)*. 2016;8(10).
14. Bernardoni JL, Sousa LF, Wermelinger LS, Lopes AS, Prezoto BC, Serrano SMT, et al. Functional variability of snake venom metalloproteinases: Adaptive advantages in targeting different prey and implications for human envenomation. *PLoS One*. 2014;9(10).
15. Menaldo DL, Bernardes CP, Pereira JC, Silveira DSC, Mamede CCN, Stanziola L, et al. Effects of two serine proteases from *Bothrops pirajai* snake venom on the complement system and the inflammatory response. *Int Immunopharmacol* [Internet]. 2013;15(4):764–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2013.02.023>
16. Lomonte B, Gutiérrez JM. Phospholipases A2 from viperidae snake venoms: How do they induce skeletal muscle damage? *Acta Chim Slov*. 2011;58(4):647–59.
17. Santos Barreto GNL, de Oliveira SS, dos Anjos IV, Chalkidis H de M, Mourão RHV, Moura-da-Silva AM, et al. Experimental *Bothrops atrox* envenomation: Efficacy of antivenom therapy and the combination of *Bothrops* antivenom with dexamethasone. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(3):1–18.
18. De Souza Queiróz L, Marques MJ, Santo Neto H. Acute local nerve lesions induced by *Bothrops jararacussu* snake venom. *Toxicon*. 2002;40(10):1483–6.
19. Jiménez N, Escalante T, Gutiérrez JM, Rucavado A. Skin pathology induced by snake venom metalloproteinase: Acute damage, revascularization, and re-epithelization in a mouse ear model. *J Invest Dermatol*. 2008;128(10):2421–8.
20. R. MILANI JR1, M.T.JORGE, F.P. FERRAZ DE CAMPOS, F.P. MARTINS, A. BOUSSO, J.L.C. CARDOSO, L.A. RIBEIRO, H.W. FAN, F.O.S. FRANÇA, I.S. SANO-MARTINS, D. CARDOSO, I. DE CÁSSIA OLIVEIRA FERREIRA FERNANDEZ, J.C. FERNANDES, V.L. ALDRED, M.P. SANDOVAL, G. PUORT RDGT and DAW. Snake bites by the jararacuçu(*Bothrops jararacussu*): clinicopathological studies of 29 proven cases in São Paulo State, Brazil. *Q J Med*. 1997;323–34.
21. Benvenuti LA, França FOS, Barbaro KC, Nunes JR, Cardoso JLC. Pulmonary

- haemorrhage causing rapid death after Bothrops jararacussu snakebite: A case report. *Toxicon*. 2003;42(3):331–4.
22. Feitosa ES, Sampaio V, Sachett J, De Castro DB, Noronha M das DN, Lozano JLL, et al. Snakebites as a largely neglected problem in the Brazilian Amazon: Highlights of the epidemiological trends in the state of Amazonas. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015;48(Suppl I):34–41.
 23. Feitosa EL, Sampaio VS, Salinas JL, Queiroz AM, Da Silva IM, Gomes AA, et al. Older age and time to medical assistance are associated with severity and mortality of snakebites in the Brazilian Amazon: A case-control study. *PLoS One*. 2015;10(7):1–15.
 24. Fan HW, Monteiro WM. History and perspectives on how to ensure antivenom accessibility in the most remote areas in Brazil. *Toxicon* [Internet]. 2018;151:15–23. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.06.070>
 25. Cristino JS, Salazar GM, Machado VA, Honorato E, Farias AS, Vissoci JRN, et al. A painful journey to antivenom: The therapeutic itinerary of snakebite patients in the Brazilian Amazon (the QUALISnake study). *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15(3):1–23.
 26. Da Silva AM, Sachett J, Monteiro WM, Bernarde PS. Extractivism of palm tree fruits: A risky activity because of snakebites in the state of Acre, Western Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2019;52:1–4.
 27. Harrison RA, Hargreaves A, Wagstaff SC, Faragher B, Lalloo DG. Snake envenoming: A disease of poverty. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(12).
 28. Sousa LF, Nicolau CA, Peixoto PS, Bernardoni JL, Oliveira SS, Portes-Junior JA, et al. Comparison of Phylogeny, Venom Composition and Neutralization by Antivenom in Diverse Species of Bothrops Complex. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(9).
 29. Gutiérrez JM, Rucavado A, Escalante T, Herrera C, Fernández J, Lomonte B, et al. Unresolved issues in the understanding of the pathogenesis of local tissue damage induced by snake venoms. *Toxicon*. 2018;148:123–31.
 30. Coelho KF, Neves JCF, Ibiapina HNS, Magalhães-Gama F, Barbosa FBA, Silva FS, et al. Exploring the Profile of Cell Populations and Soluble Immunological Mediators in Bothrops atrox Envenomations. *Toxins (Basel)*. 2023;15(3):1–17.
 31. Santoro et al. 2000.pdf.
 32. Larréché S, Chippaux JP, Chevillard L, Mathé S, Résière D, Siguret V, et al. Bleeding and thrombosis: Insights into pathophysiology of bothrops venom-related hemostasis

- disorders. *Int J Mol Sci.* 2021;22(17).
33. Barraviera B, Lomonte B, Tarkowski A, HANSON L, MEIRA DA. No Title. *J Venom Anim Toxins.* 1995;
 34. Alves EC, Gonc JDA, Sousa DDB, Oliveira S De, Nascimento F, Santos S, et al. Predicting acute renal failure in Bothrops snakebite patients in a tertiary reference center , Western Brazilian Amazon. *PLoS One.* 2018;13(8):1–16.
 35. de Oliveira Pardal PP, Souza SM, da Costa Monteiro MR de C, Fan HW, Cardoso JLC, França FOS, et al. Clinical trial of two antivenoms for the treatment of Bothrops and Lachesis bites in the north eastern Amazon region of Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2004;98(1):28–42.
 36. Mise YF, Lira-da-Silva RM, Carvalho FM. Envenomation by Bothrops in the State of Bahia: Epidemiological and clinical aspects. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007;40(5):569–73.
 37. da Silva AM, Colombini M, Moura-Da-Silva AM, de SOUZA RM, Monteiro WM, Bernarde PS. Epidemiological and clinical aspects of snakebites in the Upper Juruá River Region, Western Brazilian Amazonia. *Acta Amaz.* 2020;50(1):90–9.
 38. Silva FS, Ibiapina HNS, Neves JCF, Coelho KF, Barbosa FBA, Lacerda MVG, et al. Severe tissue complications in patients of bothrops snakebite at a tertiary health unit in the brazilian amazon: Clinical characteristics and associated factors. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2021;54:1–5.
 39. Mendes VK da G, Pereira H da S, Elias IC, Soares GS, Santos M, Talhari C, et al. Secondary infection profile after snakebite treated at a tertiary referral center in the Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2022;55:e0244.
 40. Sachett J de AG, Val FF, Alcântara JA, Cubas-Vega N, Montenegro CS, da Silva IM, et al. Bothrops atrox Snakebite: How a Bad Decision May Lead to a Chronic Disability: A Case Report. *Wilderness Environ Med.* 2020;31(3):317–23.
 41. Bashir S, Hassan I, Wani RT, Zeerak S SF. Pattern of Skin Diseases and Occupational Dermatoses among Paddy Field Workers in Kashmir Valley: A Cross-Sectional Study from North India Shahnawaz. *Indian J Community Med.* 2021;46(1):610–3.
 42. Costal-Oliveira F, Stransky S, Guerra-Duarte C, Naves de Souza DL, Vivas-Ruiz DE, Yarlequé A, et al. L-amino acid oxidase from Bothrops atrox snake venom triggers autophagy, apoptosis and necrosis in normal human keratinocytes. *Sci Rep.* 2019;9(1):1–14.

43. Freitas-de-sousa LA, Colombini M, Lopes-Ferreira M, Serrano SMT, Moura-da-silva AM. Insights into the mechanisms involved in strong hemorrhage and dermonecrosis induced by atroxlysin-Ia, a PI-class snake venom metalloproteinase. *Toxins (Basel)*. 2017;9(8).
44. Ahmadi S, Pachis ST, Kalogeropoulos K, McGeoghan F, Canbay V, Hall SR, et al. Proteomics and histological assessment of an organotypic model of human skin following exposure to *Naja nigricollis* venom. *Toxicon*. 2022;220(October).
45. Griffiths CEM, Armstrong AW, Gudjonsson JE, Barker JNWN. Psoriasis. *Lancet*. 2021;397(10281):1301–15.
46. Preclaro IAC, Wu Y-H. Spongiotic Pattern in Pemphigus: A Retrospective Observational Single-Center Study. *Dermatopathology*. 2022;9(2):172–82.
47. Lakkis NA, Maalouf GJ, Mahmassani DM. Jellyfish Stings: A Practical Approach. *Wilderness Environ Med*. 2015;26(3):422–9.
48. Suga M, Okuda M, Ogasawara Y, Yokoyama E, Hamamoto Y, Muto M. The histopathology of envenomation by Japanese viper bite [13]. *Br J Dermatol*. 2004;151(1):249–50.
49. Gutiérrez JM, Rucavado A, Escalante T, Díaz C. Hemorrhage induced by snake venom metalloproteinases: Biochemical and biophysical mechanisms involved in microvessel damage. *Toxicon*. 2005;45(8):997–1011.
50. Leon G, Sanchez L, Hernandez A, Villalta M, Herrera M, Segura A, et al. Immune Response Towards Snake Venoms. *Inflamm Allergy - Drug Targets*. 2011;10(5):381–98.
51. Beato Merino MJ, Diago A, Fernández-Flores, Fraga J, García Herrera A, Garrido M, et al. Clinical and Histopathologic Characteristics of the Main Causes of Vascular Occlusion — Part I: Thrombi. *Actas Dermosifiliogr*. 2021;112(1):1–13.
52. Rucavado A, Escalante T, Teixeira CFP, Fernandes CM, Díaz C, Gutiérrez JM. Increments in cytokines and matrix metalloproteinases in skeletal muscle after injection of tissue-damaging toxins from the venom of the snake *Bothrops asper*. *Mediators Inflamm*. 2002;11(2):121–8.
53. Santos VS, de Mendonça Neto PT, Falcão Raposo OF, Fakhouri R, Reis FP, Feitosa VLC. Evaluation of agreement between clinical and histopathological data for classifying leprosy. *Int J Infect Dis*. 2013;17(3):189–92.
54. Luis A, Cantanhede C, Figueiredo EP, Lopes FF, Fontoura MC. Concordance Between

Clinical and Histopathological Diagnosis of Oral and Maxillofacial Lesions.
2019;20(1):20–3.

7. LIMITAÇÕES

Devido à natureza retrospectiva do estudo, sem investigação direcionada detalhada e registro adequado e padronizado dos exames laboratoriais e imagens com informações clínicas dos pacientes, detalhes sobre a evolução da lesão nestes indivíduos foram perdidos. Contudo, os resultados aqui apresentados podem auxiliar na compreensão das lesões locais e servir como base para futuros estudos de desenho retrospectivo, para um melhor controle das variáveis desejadas.

8. CONCLUSÕES

Os envenenamentos botrópicos tem como principal característica a lesão tecidual local que contribui para a classificação do envenenamento, sendo o surgimento de complicações locais como bolhas e infecção secundária um agravante para o paciente. A caracterização e análise dos dados clínicos e histopatológicos é mais uma ferramenta para esclarecer os mecanismos do dano tecidual local nesse agravo, portanto o preenchimento completo e detalhado dos dados nos prontuários é de extrema importância para avaliação do paciente. Essas informações contribuem para entendermos as semelhanças e particularidades das lesões clínicas dos pacientes, além de levantar questionamentos sobre a classificação dos envenenamentos a nível local, possibilidade de manejo clínico personalizado e o uso de medicamentos adjuvantes como uma abordagem no cuidado dos pacientes de envenenamentos botrópicos.

7. REFERÊNCIAS

1. Warrell DA. Snake bite. *Lancet* [Internet]. 2010;375(9708):77–88. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61754-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61754-2)
2. Gutiérrez JM, Calvete JJ, Habib AG, Harrison RA, Williams DJ, Warrell DA. Snakebite envenoming. *Nat Rev Dis Prim*. 2017;3(1).
3. Harrison RA, Hargreaves A, Wagstaff SC, Faragher B, Lalloo DG. Snake envenoming: A disease of poverty. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(12).
4. Chippaux JP. Snakebite envenomation turns again into a neglected tropical disease! *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2017;23(1):1–2.
5. World Health Organization. Global snakebite burden. 2018;(March):1–6. Available from: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA71/A71_17-en.pdf
6. Longbottom J, Shearer FM, Devine M, Alcoba G, Chappuis F, Weiss DJ, et al.

- Vulnerability to snakebite envenoming: a global mapping of hotspots. *Lancet*. 2018;392(10148):673–84.
7. Cardoso, João Luiz Costa. França, Francisco Oscar Siqueira. Wen, Fan Hui. Málaque, Ceila Maria Sant'Ana. Haddad Jr. V. *Animais Peçonhentos no Brasil*. 2nd ed. Sarvier; 2009. 540 p.
 8. Loren Rebouças Santos H, Diego de Brito Sousa J, Arthur Alcântara J, de Almeida Gonçalves Sachett J, Soares Villas Boas T, Saraiva I, et al. Rattlesnakes bites in the Brazilian Amazon: Clinical epidemiology, spatial distribution and ecological determinants. *Acta Trop* [Internet]. 2019;191(August 2018):69–76. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.12.030>
 9. Diniz-Sousa R, Moraes J do N, Rodrigues-da-Silva TM, Oliveira CS, Caldeira CA d. S. A brief review on the natural history, venomics and the medical importance of bushmaster (*Lachesis*) pit viper snakes. *Toxicon X*. 2020;7.
 10. Bucarechi F, De Capitani EM, Vieira RJ, Rodrigues CK, Zannin M, Da Silva NJ, et al. Coral snake bites (*Micrurus* spp.) in Brazil: A review of literature reports. *Clin Toxicol*. 2016;54(3):222–34.
 11. Bisneto PF, Alcântara JA, Mendonça da Silva I, de Almeida Gonçalves Sachett J, Bernarde PS, Monteiro WM, et al. Coral snake bites in Brazilian Amazonia: Perpetrating species, epidemiology and clinical aspects. *Toxicon*. 2020;175(November 2019):7–18.
 12. Matos RR, Ignotti E. Incidence of venomous snakebite accidents by snake species in brazilian biomes. *Cienc e Saude Coletiva*. 2020;25(7):2837–46.
 13. Hui Wen F, Monteiro WM, Moura da Silva AM, Tambourgi D V., Mendonça da Silva I, Sampaio VS, et al. Snakebites and Scorpion Stings in the Brazilian Amazon: Identifying Research Priorities for a Largely Neglected Problem. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2015;9(5):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0003701>
 14. Monteiro WM, Contreras-Bernal JC, Bisneto PF, Sachett J, Mendonça da Silva I, Lacerda M, et al. Bothrops atrox, the most important snake involved in human envenomings in the amazon: How venomics contributes to the knowledge of snake biology and clinical toxinology. *Toxicon X*. 2020;6.
 15. Feitosa EL, Sampaio VS, Salinas JL, Queiroz AM, Da Silva IM, Gomes AA, et al. Older age and time to medical assistance are associated with severity and mortality of snakebites in the Brazilian Amazon: A case-control study. *PLoS One*. 2015;10(7):1–15.
 16. Ministério da Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificações (SINAN) [Internet]. 2022. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sinannet/animaisp/bases/animaisbrnet.def>
 17. Feitosa ES, Sampaio V, Sachett J, De Castro DB, Noronha M das DN, Lozano JLL, et al. Snakebites as a largely neglected problem in the brazilian amazon: Highlights of the epidemiological trends in the state of amazonas. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015;48(Suppl I):34–41.
 18. Fan HW, Monteiro WM. History and perspectives on how to ensure antivenom accessibility in the most remote areas in Brazil. *Toxicon* [Internet]. 2018;151:15–23. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.06.070>
 19. Magalhães SFV, Peixoto HM, Moura N, Monteiro WM, De Oliveira MRF. Snakebite envenomation in the Brazilian Amazon: A descriptive study. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2019;113(3):143–51.
 20. Magalhães SFV, Peixoto HM, De Almeida Gonçalves Sachett J, Oliveira SS, Alves EC, Dos Santos Ibiapina HN, et al. Snakebite envenomation in the Brazilian Amazon:

- A cost-of-illness study. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2020;114(9):642–9.
21. Moretto Del-Rei TH, Sousa LF, Rocha MMT, Freitas-de-Sousa LA, Travaglia-Cardoso SR, Grego K, et al. Functional variability of *Bothrops atrox* venoms from three distinct areas across the Brazilian Amazon and consequences for human envenomings. *Toxicon* [Internet]. 2019;164(April):61–70. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.04.001>
 22. Guércio RAP, Shevchenko A, Shevchenko A, López-Lozano JL, Paba J, Sousa M V., et al. Ontogenetic variations in the venom proteome of the Amazonian snake *Bothrops atrox*. *Proteome Sci.* 2006;4:1–14.
 23. Sousa LF, Nicolau CA, Peixoto PS, Bernardoni JL, Oliveira SS, Portes-Junior JA, et al. Comparison of Phylogeny, Venom Composition and Neutralization by Antivenom in Diverse Species of *Bothrops* Complex. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7(9).
 24. Neiva M, Arraes FBM, de Souza JV, Rádis-Baptista G, Prieto da Silva ÁRB, Walter MEMT, et al. Transcriptome analysis of the Amazonian viper *Bothrops atrox* venom gland using expressed sequence tags (ESTs). *Toxicon.* 2009;53(4):427–36.
 25. Gutiérrez JM, Escalante T, Rucavado A. Experimental pathophysiology of systemic alterations induced by *Bothrops asper* snake venom. *Toxicon.* 2009;54(7):976–87.
 26. Gutiérrez JM, Rucavado A, Chaves F, Díaz C, Escalante T. Experimental pathology of local tissue damage induced by *Bothrops asper* snake venom. *Toxicon.* 2009;54(7):958–75.
 27. Ibiapina HNS, Costa AG, Sachett JAG, Silva IM, Tarragô AM, Neves JCF, et al. An immunological stairway to severe tissue complication assembly in bothrops atrox snakebites. *Front Immunol.* 2019;10(AUG):1–12.
 28. Gâz Florea ŞA, Gâz Florea A, Kelemen H, Muntean D-L. Snake Venom Metalloproteinases. *Acta Medica Marisiensis.* 2016;62(1):106–11.
 29. Hatakeyama DM, Tasima LJ, Bravo-Tobar CA, Serino-Silva C, Tashima AK, Rodrigues CFB, et al. Venom complexity of *Bothrops atrox* (common lancehead) siblings. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* 2020;26(October 2020):1–17.
 30. Bernardoni JL, Sousa LF, Wermelinger LS, Lopes AS, Prezoto BC, Serrano SMT, et al. Functional variability of snake venom metalloproteinases: Adaptive advantages in targeting different prey and implications for human envenomation. *PLoS One.* 2014;9(10).
 31. Menaldo DL, Bernardes CP, Pereira JC, Silveira DSC, Mamede CCN, Stanzola L, et al. Effects of two serine proteases from *Bothrops pirajai* snake venom on the complement system and the inflammatory response. *Int Immunopharmacol* [Internet]. 2013;15(4):764–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2013.02.023>
 32. De Almeida MT, Freitas-De-Sousa LA, Colombini M, Gimenes SNC, Kitano ES, Faquim-Mauro EL, et al. Inflammatory reaction induced by two metalloproteinases isolated from bothrops atrox venom and by fragments generated from the hydrolysis of basement membrane components. *Toxins (Basel).* 2020;12(2).
 33. Niewiarowski S, Kirby EP, Brudzynski TM, Stocker K. Thrombocytin, a Serine Protease from *Bothrops atrox* Venom. 2. Interaction with Platelets and Plasma-Clotting Factors. *Biochemistry.* 1979;18(16):3570–7.
 34. Ayres LR, Récio A dos R, Burin SM, Pereira JC, Martins AC, Sampaio SV, et al. Bothrops snake venoms and their isolated toxins, an L-amino acid oxidase and a serine protease, modulate human complement system pathways. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* [Internet]. 2015;21(1):1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s40409-015-0026-7>
 35. Dennis EA, Cao J, Hsu YH, Magrioti V, Kokotos G. Phospholipase A2 enzymes: Physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and

- therapeutic intervention. Vol. 111, Chemical Reviews. 2011. 6130–6185 p.
36. Bickler PE. Endogenous Signaling Pathways. *Toxins (Basel)*. 2020;12:1–26.
 37. Kanashiro MM, De Escocard RCM, Petretski JH, Prates M V., Alves EW, Machado OLT, et al. Biochemical and biological properties of phospholipases A2 from *Bothrops atrox* snake venom. *Biochem Pharmacol*. 2002;64(7):1179–86.
 38. Lomonte B, Gutiérrez JM. Phospholipases A2 from viperidae snake venoms: How do they induce skeletal muscle damage? *Acta Chim Slov*. 2011;58(4):647–59.
 39. Cedro RCA, Menaldo DL, Costa TR, Zoccal KF, Sartim MA, Santos-Filho NA, et al. Cytotoxic and inflammatory potential of a phospholipase A2 from *Bothrops jararaca* snake venom. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2018;24(1):1–14.
 40. Guo C, Liu S, Yao Y, Zhang Q, Sun MZ. Past decade study of snake venom l-amino acid oxidase. *Toxicon [Internet]*. 2012;60(3):302–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.05.001>
 41. Alves RM, Antonucci GA, Paiva HH, Cintra ACO, Franco JJ, Mendonça-Franqueiro EP, et al. Evidence of caspase-mediated apoptosis induced by l-amino acid oxidase isolated from *Bothrops atrox* snake venom. *Comp Biochem Physiol - A Mol Integr Physiol*. 2008;151(4):542–50.
 42. Costal-Oliveira F, Stransky S, Guerra-Duarte C, Naves de Souza DL, Vivas-Ruiz DE, Yarlequé A, et al. L-amino acid oxidase from *Bothrops atrox* snake venom triggers autophagy, apoptosis and necrosis in normal human keratinocytes. *Sci Rep*. 2019;9(1):1–14.
 43. Ribeiro PH, Zuliani JP, Fernandes CFC, Calderon LA, Stábeli RG, Nomizo A, et al. Mechanism of the cytotoxic effect of L-amino acid oxidase isolated from *Bothrops alternatus* snake venom. *Int J Biol Macromol [Internet]*. 2016;92:329–37. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.022>
 44. Costa Torres AF, Dantas RT, Toyama MH, Filho ED, Zara FJ, Rodrigues de Queiroz MG, et al. Antibacterial and antiparasitic effects of *Bothrops marajoensis* venom and its fractions: Phospholipase A 2 and l-amino acid oxidase. *Toxicon*. 2010;55(4):795–804.
 45. Izidoro LFM, Sobrinho JC, Mendes MM, Costa TR, Grabner AN, Rodrigues VM, et al. Snake venom L-amino acid oxidases: Trends in pharmacology and biochemistry. *Biomed Res Int*. 2014;2014.
 46. Oliveira SS, Alves EC, Santos AS, Pereira JPT, Sarraff LKS, Nascimento EF, et al. Factors associated with systemic bleeding in bothrops envenomation in a tertiary hospital in the Brazilian Amazon. *Toxins (Basel)*. 2019;11(1).
 47. de Oliveira Pardal PP, Souza SM, da Costa Monteiro MR de C, Fan HW, Cardoso JLC, França FOS, et al. Clinical trial of two antivenoms for the treatment of *Bothrops* and *Lachesis* bites in the north eastern Amazon region of Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2004;98(1):28–42.
 48. Mise YF, Lira-da-Silva RM, Carvalho FM. Envenomation by *Bothrops* in the State of Bahia: Epidemiological and clinical aspects. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(5):569–73.
 49. Berling I, Isbister GK. Hematologic effects and complications of snake envenoming. *Transfus Med Rev [Internet]*. 2015;29(2):82–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tmr.2014.09.005>
 50. Silva de Oliveira S, Campos Alves E, dos Santos Santos A, Freitas Nascimento E, Tavares Pereira JP, Mendonça da Silva I, et al. *Bothrops* snakebites in the Amazon: recovery from hemostatic disorders after Brazilian antivenom therapy. *Clin Toxicol [Internet]*. 2019;58(4):266–74. Available from: <https://doi.org/10.1080/15563650.2019.1634273>

51. Mosquera A, Idrovo LA, Tafur A, Del Brutto OH. Stroke following Bothrops spp. snakebite. *Neurology*. 2003;60(10):1577–80.
52. de Oliveira Pardal PP, da Silva Pinheiro ACJ, Cunha Silva CT, Santos PRSG, da Costa Gadelha MA. Hemorrhagic stroke in children caused by Bothrops marajoensis envenoming: A case report. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* [Internet]. 2015;21(1):1–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s40409-015-0052-5>
53. Silva de Oliveira S, Freitas-de-Sousa LA, Alves EC, de Lima Ferreira LC, da Silva IM, de Lacerda MVG, et al. Fatal stroke after Bothrops snakebite in the Amazonas state, Brazil: A case report. *Toxicon* [Internet]. 2017;138:102–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.08.021>
54. Amaral CFS, Rezende NA de, Silva OA da, Ribeiro MMF, Magalhães RA, Reis RJ dos, et al. Insuficiência renal aguda secundária a acidentes ofídicos botrópico e crotálico. Análise de 63 casos. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1986;28(4):220–7.
55. Alves EC, Gonc JDA, Sousa DDB, Oliveira S De, Nascimento F, Santos S, et al. Predicting acute renal failure in Bothrops snakebite patients in a tertiary reference center , Western Brazilian Amazon. *PLoS One*. 2018;13(8):1–16.
56. Moreira V, Dos-Santos MC, Nascimento NG, da Silva HB, Fernandes CM, D'Império Lima MR, et al. Local inflammatory events induced by Bothrops atrox snake venom and the release of distinct classes of inflammatory mediators. *Toxicon* [Internet]. 2012;60(1):12–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.03.004>
57. de Oliveira SS, de Souza Sampaio V, de Almeida Gonçalves Sachett J, Campos Alves E, da Silva VC, Alcântara de Lima JA, et al. Snakebites in the Brazilian Amazon: Current Knowledge and Perspectives. 2018;73–99.
58. Silva FS, Ibiapina HNS, Neves JCF, Coelho KF, Barbosa FBA, Lacerda MVG, et al. Severe tissue complications in patients of bothrops snakebite at a tertiary health unit in the brazilian amazon: Clinical characteristics and associated factors. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2021;54:1–5.
59. Gimenes SNC, Sachett JAG, Colombini M, Freitas-De-sousa LA, Ibiapina HNS, Costa AG, et al. Observation of bothrops atrox snake envenoming blister formation from five patients: Pathophysiological insights. *Toxins (Basel)*. 2021;13(11):1–13.
60. Ministério da Saúde. Guia De Vigilância Em Saúde Ministério Da Saúde. Ministério da Saúde. 2019. 01–727 p.
61. Macêdo JKA, Joseph JK, Menon J, Escalante T, Rucavado A, Gutiérrez JM, et al. Proteomic analysis of human blister fluids following envenomation by three snake species in India: Differential markers for venom mechanisms of action. *Toxins (Basel)*. 2019;11(5).
62. Andrade J guimarães De, Pinto RNL, Andrade ALSS de, Martelli CM turchi, Zicker F. Estudo bacteriológico de abscessos causados por picada de serpentes do genero bothrops. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1989;31(6):363–7.
63. Jorge MT, Mendonça JS de, Ribeiro LA, Silva MLR da, Kusano EJU, Cordeiro CL dos S. Flora bacteriana da cavidade oral, presas e veneno de Bothrops jararaca: possível fonte de infecção no local da picada. Vol. 32, *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 1990. p. 6–10.
64. Sachett JAG, da Silva IM, Alves EC, Oliveira SS, Sampaio VS, do Vale FF, et al. Poor efficacy of preemptive amoxicillin clavulanate for preventing secondary infection from Bothrops snakebites in the Brazilian Amazon: A randomized controlled clinical trial. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(7):1–21.
65. da Silva AM, Colombini M, Moura-da-Silva AM, de Souza RM, Monteiro WM, Bernarde PS. Ethno-knowledge and attitudes regarding snakebites in the Alto Juruá region, Western Brazilian Amazonia. *Toxicon*. 2019;171:66–77.

66. Célio Campos Borges MS e MC dos S. Aspectos epidemiológicos e clínicos dos acidentes ofídicos ocorridos nos municípios do Estado do Amazonas. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1999;
67. Herrera C, Macêdo JKA, Feoli A, Escalante T, Rucavado A, Gutiérrez JM, et al. Muscle Tissue Damage Induced by the Venom of *Bothrops asper*: Identification of Early and Late Pathological Events through Proteomic Analysis. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2016;10(4):1–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0004599>
68. Ribeiro LA, Jorge MT, Lebrão ML. Prognostic factors for local necrosis in *Bothrops jararaca* (Brazilian pit viper) bites. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2001;95(6):630–4.
69. Masaki F. Skin necrosis due to snakebite. In: *Skin Necrosis.* 2015. p. 1–296.
70. Kallel H, Mayence C, Houcke S, Mathien C, Mehdaoui H, Gutiérrez JM, et al. Severe snakebite envenomation in French Guiana: When antivenom is not available. *Toxicon* [Internet]. 2018;146:87–90. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.04.004>
71. Bucarechi F, Capitani EM De, Hyslop S, Mello SM, Madureira PR, Zanardi V, et al. Compartment syndrome after *Bothrops jararaca* snakebite: Monitoring, treatment, and outcome. *Clin Toxicol.* 2010;48(1):57–60.
72. Sachett J de AG, Val FF, Alcântara JA, Cubas-Vega N, Montenegro CS, da Silva IM, et al. *Bothrops atrox* Snakebite: How a Bad Decision May Lead to a Chronic Disability: A Case Report. *Wilderness Environ Med.* 2020;31(3):317–23.
73. Oporta EA. Síndrome compartimental por envenenamento ofídico. (manejo de fasciotomia con terapia VAC). *Rev Médica Costa Rica y Centroamérica.* 2010;67(594):405–15.
74. Sachett, Jacqueline de Almeida Gonçalves; Wen, Fan Hui; Monteiro WM. Guia para o tratamento dos acidentes ofídicos. *Toxins (Basel).* 2022;51.
75. Gutiérrez JM. Global availability of antivenoms: The relevance of public manufacturing laboratories. *Toxins (Basel).* 2019;11(1).
76. Mescher AL. Junqueira's Basic Histology : Text & Atlas (15th ed). Vol. 13, *Morphologia.* 2018. 439–450 p.
77. Khavkin J, Ellis DAF. Aging Skin: Histology, Physiology, and Pathology. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2011;19(2):229–34.
78. Involved OS. *Physiology , Integument.* 2023;1–7.
79. Gartner LP, Hiatt JL. *Histologia Essencial.* Elsevier; 2011. 342 p.
80. Jayadev R, Sherwood DR. Basement membranes. *Curr Biol* [Internet]. 2017;27(6):R207–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.006>
81. Sekiguchi R, Yamada KM. Basement Membranes in Development and Disease [Internet]. 1st ed. Vol. 130, *Current Topics in Developmental Biology.* Elsevier Inc.; 2018. 143–191 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.ctdb.2018.02.005>
82. Glentis A, Gurchenkov V, Vignjevic DM. Assembly, heterogeneity, and breaching of the basement membranes. *Cell Adhes Migr.* 2014;8(3):236–45.
83. Khalilgharibi N, Mao Y. To form and function: On the role of basement membrane mechanics in tissue development, homeostasis and disease. *Open Biol.* 2021;11(2).
84. Zorina A, Zorin V, Isaev A, Kudlay D, Vasileva M, Kopnin P. Dermal Fibroblasts as the Main Target for Skin Anti-Age Correction Using a Combination of Regenerative Medicine Methods. *Curr Issues Mol Biol.* 2023;45(5):3829–47.
85. Rippa AL, Kalabusheva EP, Vorotelyak EA. Regeneration of dermis: Scarring and cells involved. *Cells.* 2019;8(6).
86. Gutiérrez JM, Escalante T, Rucavado A, Herrera C, Fox JW. A comprehensive view of the structural and functional alterations of extracellular matrix by snake venom

- metalloproteinases (SVMPs): Novel perspectives on the pathophysiology of envenoming. *Toxins (Basel)*. 2016;8(10).
87. Gutiérrez JM, Rucavado A, Escalante T, Herrera C, Fernández J, Lomonte B, et al. Unresolved issues in the understanding of the pathogenesis of local tissue damage induced by snake venoms. *Toxicon*. 2018;148:123–31.
 88. Santos Barreto GNL, de Oliveira SS, dos Anjos IV, Chalkidis H de M, Mourão RHV, Moura-da-Silva AM, et al. Experimental Bothrops atrox envenomation: Efficacy of antivenom therapy and the combination of Bothrops antivenom with dexamethasone. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(3):1–18.
 89. De Souza Queiróz L, Marques MJ, Santo Neto H. Acute local nerve lesions induced by Bothrops jararacussu snake venom. *Toxicon*. 2002;40(10):1483–6.
 90. Rucavado A, Escalante T, Teixeira CFP, Fernandes CM, Díaz C, Gutiérrez JM. Increments in cytokines and matrix metalloproteinases in skeletal muscle after injection of tissue-damaging toxins from the venom of the snake Bothrops asper. *Mediators Inflamm*. 2002;11(2):121–8.
 91. Jiménez N, Escalante T, Gutiérrez JM, Rucavado A. Skin pathology induced by snake venom metalloproteinase: Acute damage, revascularization, and re-epithelization in a mouse ear model. *J Invest Dermatol*. 2008;128(10):2421–8.
 92. Freitas-de-sousa LA, Colombini M, Lopes-Ferreira M, Serrano SMT, Moura-da-silva AM. Insights into the mechanisms involved in strong hemorrhage and dermonecrosis induced by atroxlysin-Ia, a PI-class snake venom metalloproteinase. *Toxins (Basel)*. 2017;9(8).
 93. R. MILANI JR1, M.T.JORGE, F.P. FERRAZ DE CAMPOS, F.P. MARTINS, A. BOUSSO, J.L.C. CARDOSO, L.A. RIBEIRO, H.W. FAN, F.O.S. FRANÇA, I.S. SANO-MARTINS, D. CARDOSO, I. DE CÁSSIA OLIVEIRA FERREIRA FERNANDEZ, J.C. FERNANDES, V.L. ALDRED, M.P. SANDOVAL, G. PUORT RDGT and DAW. Snake bites by the jararacuçu(Bothrops jararacussu): clinicopathological studies of 29 proven cases in São Paulo State, Brazil. *Q J Med*. 1997;323–34.
 94. Benvenuti LA, França FOS, Barbaro KC, Nunes JR, Cardoso JLC. Pulmonary haemorrhage causing rapid death after Bothrops jararacussu snakebite: A case report. *Toxicon*. 2003;42(3):331–4.

7. ANEXOS E APÊNDICES

7.1. Equipe do Projeto

Nome	Formação	Instituição	Função
Fabiane Bianca Albuquerque Barbosa	Biomédica	FMT-HVD/UEA	Coordenadora
Dr. Allyson Guimarães da Costa	Enfermeiro	HEMOAM /FMT-HVD/UEA	Orientador
Msc. Hiochelson Najibe dos Santos Ibiapina	Biomédico	FMT-HVD/UEA	Colaborador
Dra. Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett	Enfermeira	FMT-HVD/UEA	Colaboradora
Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira	Médico	UFAM	Colaborador
Dra. Monique Freire Santana	Médica	UFAM	Colaboradora
Rima de Souza Raad	Médica	FMT/HVD/UEA	Colaboradora
Dr. Wuelton Marcelo Monteiro	Farmacêutico-Bioquímico	FMT-HVD/UEA	Co-Orientador

7.2. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL DR. HEITOR VIEIRA
DOURADO ((FMT-HVD))



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Antibioticoterapia empírica precoce: um ensaio clínico randomizado para avaliação de superioridade de ciprofloxacina versus placebo em infecção bacteriana secundária de pacientes vítimas de acidentes ofídicos na Amazonia Brasileira

Pesquisador: Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 19380913.6.3001.0005

Instituição Proponente: Escola Superior de Ciências da Saúde da Universidade do Estado do

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 602.907-0

Data da Relatoria: 20/12/2013

Apresentação do Projeto:

conforme parecer # 492.892, de 13/12/2013.

Objetivo da Pesquisa:

conforme parecer # 492.892, de 13/12/2013.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

conforme parecer # 492.892, de 13/12/2013.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

conforme parecer # 492.892, de 13/12/2013.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

conforme parecer # 492.892, de 13/12/2013.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Trata-se de projeto de pesquisa cuja instituição proponente é a Universidade do Estado do Amazonas e a FMT-HVD é a instituição coparticipante.

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

7.3. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Amazonas

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL DR. HEITOR VIEIRA
DOURADO ((FMT-HVD))



Continuação do Parecer: 602.907-0

Pelo o que está exposto no protocolo de pesquisa e seus apêndices, vota-se pela aprovação do mesmo.

Situação do Parecer:

Aprovado

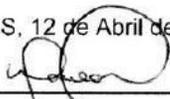
Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O presente projeto está APROVADO e os interessados ficam informados de apresentar a este CEP os relatórios parciais e final do estudo, conforme prevê a Resolução CNS nº 466/2012, utilizando os modelos disponíveis em nossa homepage, na aba [Modelos de Documentos](#). Se houver qualquer tipo de dúvida o pesquisador deve entrar em contato com o CEP/FMT-HVD, que lhe oferecerá as orientações necessárias.

MANAUS, 12 de Abril de 2014


Assinador por:

Maria Paula Gomes Mourão
(Coordenador)

Este parecer reemitido substitui o parecer número 602907 gerado na data 10/04/2014 15:50:39, onde o número CAAE foi alterado de 19380913.6.0000.5016 para 19380913.6.3001.0005.

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br



UNIVERSIDADE DO ESTADO
DO AMAZONAS - UEA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Antibioticoterapia empírica precoce: um ensaio clínico randomizado para avaliação de superioridade de ciprofloxacina versus placebo em infecção bacteriana secundária de pacientes vítimas de acidentes ofídicos na Amazonia Brasileira

Pesquisador: Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 19380913.6.0000.5016

Instituição Proponente: Escola Superior de Ciências da Saúde da Universidade do Estado do

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 492.892

Data da Relatoria: 13/12/2013

Apresentação do Projeto:

Antibioticoterapia empírica precoce: um ensaio clínico randomizado para avaliação de superioridade de ciprofloxacina versus placebo em o infecção bacteriana secundária de pacientes vítimas de acidentes ofídicos na Amazonia Brasileira. Trata-se de um ensaio clínico com pacientes envolvidos em acidentes ofídicos atendidos na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, acometidos por acidentes ofídicos no período de novembro/2013 a maio/2015. A Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado está situada no município de Manaus-AM, sendo considerada centro de referência nacional e mundial para o tratamento de enfermidades tropicais, principalmente aos eventos relacionados a animais peçonhentos. A população considerada para o presente estudo corresponde aos pacientes atendidos pela instituição com acidentes ofídicos, correspondendo em média 300 pacientes/ano. Assim, será considerado para o cálculo da população para um período de nove mesmo de seleção amostral.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Avaliar a eficácia da antibioticoterapia empírica precoce na prevenção de infecções secundários

Endereço: Av. Djalma Batista, nº 3578, Chapada

Bairro: chapada

CEP: 69.050-030

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)3878-4368

Fax: (92)3878-4368

E-mail: cep.uea@gmail.com

Continuação do Parecer: 492.892

em pacientes vítimas de acidentes ofídicos.

Objetivo Secundário:

- Identificar o perfil sócio-demográfico dos pacientes envolvidos em acidentes ofídicos;- Utilizar antibioticoterapia empírica precoce em um grupo de pacientes pós acidente ofídico; - Verificar a evolução clínica relacionada à infecção secundária de pacientes envolvidos em acidente ofídico tratados com e sem antibioticoterapia.- Estabelecer a infectividade das serpentes na lesão decorrentes do acidente e o escore clínico para definição destas infecções.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos são mínimos por tratar de avaliação clínica sem teste de novas drogas, se trata de utilização de antibioticoterapia empírica precoce.

Benefícios:

Este estudo propiciará a participação direta dos profissionais de saúde atuantes no hospital referência em medicina tropical do estado do Amazonas, valorizando o atendimento da rede de assistência específica de ofidismo na região. Além disso, contribuirá para a diminuição da incidência de infecções secundárias pós-acidente ofídico, redução de gastos com internação hospitalar e tratamento dessas infecções, prevenção de resistência

bacteriana ao estabelecer padronização da antibioticoterapia, diminuição dos agravos decorrentes desses acidentes e devolução precoce do indivíduo às suas atividades laborais pelo fato da maioria destes eventos ocorrerem em trabalhos ativos da área rural.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo contribuirá para o tratamento mais apropriado para os acidentes ofídicos na Amazônia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Av. Djalma Batista, nº 3578, Chapada
Bairro: chapada CEP: 69.050-030
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)3878-4368 Fax: (92)3878-4368 E-mail: cep.uea@gmail.com

7.4. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

“Ensaio clínico randomizado para avaliação da superioridade de Amoxicilina/Ácido Clavulânico versus placebo na prevenção de infecção bacteriana secundária em acidentes ofídicos na Amazônia Brasileira”

Nome do Voluntário: _____

Você procurou e será atendido para o acompanhamento do acidente envolvendo serpente (cobra) da Fundação de Medicina Tropical e será internado. Por isso está sendo convidado a participar, de um estudo clínico que envolve a evolução da ferida decorrente da picada da serpente e seus sinais e sintomas.

Este estudo tem sua justificativa na complicação frequente em infecções bacterianas secundárias, ou seja, infecção da ferida decorrente da picada da serpente (cobra). Muitos pacientes retornam para casa sem a nova possibilidade de retorno ao hospital, para tratamento das complicações decorrentes dessa ferida. Com isso, este estudo propõe conhecer as causas e possíveis tratamentos preventivos destas infecções e inflamações para melhorar o cuidado à esses pacientes.

Para que você possa decidir se quer participar ou não deste estudo, precisa conhecer seus benefícios, riscos e implicações.

OBJETIVOS DO ESTUDO

Avaliar a eficácia da antibioticoterapia empírica precoce na prevenção de infecções secundárias em pacientes vítimas de acidentes ofídicos.

Avaliar a reação inflamatória decorrente dos acidentes ofídicos.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Se você concordar em participar deste estudo, neste primeiro dia de internação responderá a um questionário e será coletado sangue para exames laboratoriais de acordo com a rotina do hospital para o acidente ofídico (picada de cobra). Um exame complementar de biópsia (retirada de um pequeno fragmento) poderá ser realizado no local da lesão para avaliar alterações no tecido decorrentes ao envenenamento, este procedimento pode levar a sangramento local.

Para os exames envolvidos neste estudo será utilizada uma parte do material (sangue) obtido para a realização de exames rotineiros como já referido. Se você apresentar infecção local decorrente do acidente com serpente (cobra), durante o período de internação, será adicionalmente avaliado por ultrassonografia, hemocultura e biópsia (retirada de um pequeno fragmento) da ferida.

MÉTODOS ALTERNATIVOS

Para prevenir a infecção da ferida decorrente do acidente, você poderá ter a indicação ou não, da prescrição de antibiótico, de acordo com o grupo de pesquisa que você for selecionado.

RISCOS

O seu tratamento será exatamente o mesmo, caso você participe ou não deste estudo. A coleta de sangue para o estudo coincidirá com a coleta de sangue para os exames rotineiros, de forma a não ser prevista punção venosa (retirada de sangue) adicional. Caso se necessite coleta de sangue adicional, esta será realizada apenas em casos de extrema necessidade, como para confirmar algum resultado do diagnóstico. Estas punções venosas para exames laboratoriais, que são partes de seu tratamento regular, podem resultar em dor no local da punção e/ou manchas roxas transitórias (que desaparecem com o tempo), chamadas equimoses.

BENEFÍCIOS

A sua participação neste estudo irá contribuir para a criação de um protocolo de prevenção de infecção secundária e, controle e tratamento da inflamação, em indivíduos após os acidentes com serpentes, além de maior resolutividade das necessidades de saúde da população na Região Amazônica, e, conseqüentemente, redução de gastos públicos nas complicações de eventos desta natureza.

Além disso, terá auxílio significativo no direcionamento de políticas públicas de saúde, visando à prevenção de infecções secundárias das lesões e, controle e tratamento da inflamação, decorrentes de acidentes ofídicos.

ACOMPANHAMENTO, ASSISTÊNCIA E RESPONSÁVEIS

Você será acompanhado por profissionais especialistas da Fundação Medicina Tropical Dr Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) e terá toda a assistência disponível na FMT-HVD para seu cuidado. Durante os dias de internação, ou seja, durante a participação neste estudo, sempre terá como referência os responsáveis pela pesquisa, listados neste Termo de Consentimento.

CARÁTER CONFIDENCIAL DOS REGISTROS

Além da equipe de saúde que cuidará de você, seus registros médicos poderão ser consultados pelo Comitê de Ética da FMT-HVD e equipe de pesquisadores envolvidos. Seu nome não será revelado ainda que informações de seu registro médico sejam utilizadas para propósitos educativos ou de publicação, que ocorrerão independentemente dos resultados obtidos.

TRATAMENTO MÉDICO EM CASO DE DANOS

Todo e qualquer dano decorrente do desenvolvimento deste projeto de pesquisa, e que necessite de atendimento médico, ficará a cargo da FMT-HVD. Seu tratamento e acompanhamento médico, ocorrerão independentemente de sua participação neste estudo.

CUSTOS

Não haverá qualquer custo ou forma de pagamento para o paciente pela sua participação no estudo.

BASES DA PARTICIPAÇÃO

É importante que você saiba que a sua participação neste estudo é completamente voluntária e que você pode recusar-se a participar ou interromper sua participação a qualquer momento sem penalidades ou perda de benefícios aos quais você tem direito. Em caso de você decidir interromper sua participação no estudo, a equipe assistente deve ser comunicada e a coleta de amostras para os exames relativos ao estudo será imediatamente interrompida. O médico responsável por sua internação pode interromper sua participação no estudo a qualquer momento, mesmo sem a sua autorização.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTOS

Nós estimulamos a você ou seus familiares a fazer perguntas a qualquer momento do estudo. Neste caso, por favor, ligue para Enfermeira Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett no telefone (92) 981518086 ou para o médico Dr Iran Mendonça da Silva (92) 993223775. Se você tiver perguntas com relação a seus direitos como participante do estudo clínico, também pode contar com outra forma de esclarecimento com Comitê de Ética Fundação de Medicina Tropical, pelo telefone (92) 2127-3572 ou e-mail: cep@fmt.am.gov.br

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO E ASSINATURA

Li as informações acima e entendi o propósito deste estudo assim como os benefícios e riscos potenciais da participação no mesmo. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, por intermédio deste, dou livremente meu consentimento para participar neste estudo.

Entendo que poderei ser submetido a exames laboratoriais e de **imagem** adicionais aos necessários para meu tratamento e não receberei compensação monetária por minha participação neste estudo.

Eu recebi uma cópia assinada deste formulário de consentimento.

_____/_____/_____
(Assinatura do Paciente) dia mês ano

_____/_____/_____
(Assinatura de Testemunha, se necessário) dia mês ano

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste estudo ao paciente indicado acima e/ou pessoa autorizada para consentir pelo paciente.

_____/_____/_____
(Assinatura da pessoa que obteve o consentimento) dia mês ano