



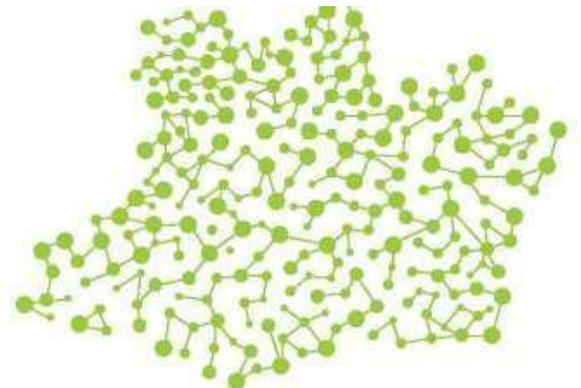
**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS**  
**FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DR. HEITOR VIEIRA DOURADO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**  
**MESTRADO EM DOENÇAS TROPICAIS E INFECCIOSAS**



**FREQUÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À MICROANGIOPATIA  
TROMBÓTICA EM PACIENTES VÍTIMAS DE ENVENENAMENTO  
BOTRÓPICO NA AMAZÔNIA BRASILEIRA**

**KAROLAINE OLIVEIRA BENTES**

**MANAUS  
2023**



**KAROLAINÉ OLIVEIRA BENTES**

**FREQUÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À MICROANGIOPATIA  
TROMBÓTICA EM PACIENTES VÍTIMAS DE ENVENENAMENTO 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, como requisito para obtenção do grau de *Mestre em Doenças Tropicais e Infecciosas*.

Orientador: Prof. Doutor Marco Aurélio Sartim

**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.**

B475f	<p>Bentes, Karolaine Oliveira Frequência e fatores associados à Microangiopatia Trombótica em pacientes vítimas de envenenamento botrópico na Amazônia brasileira / Karolaine Oliveira Bentes. Manaus : [s.n.], 2023. 121 f.: color.; 28 cm.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical – Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2023. Inclui bibliografia Orientador: Marco Aurélio Sartim</p> <p>1. <i>Bothrops atrox</i>. 2. microangiopatia trombótica. 3. infecção secundária. 4. insuficiência renal aguda. I. Marco Aurélio Sartim (Orient.). II. Universidade do Estado do Amazonas. III. Frequência e fatores associados à Microangiopatia Trombótica em pacientes vítimas de envenenamento botrópico na Amazônia brasileira</p>
-------	--

**FOLHA DE JULGAMENTO****FREQUÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À  
MICROANGIOPATIA TROMBÓTICA EM PACIENTES  
VÍTIMAS DE ENVENENAMENTO BOTRÓPICO NA AMAZÔNIA  
BRASILEIRA****KAROLAINE OLIVEIRA BENTES**

“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:**

---

**Prof. Marco Aurélio Sartim, Dr.**  
**Presidente**

---

**Prof. José María Gutiérrez, Dr.**  
**Membro**

---

**Profa. Manuela Berto Pucca, Dra.**  
**Membro**

## DEDICATÓRIA

A Kevin Lopes Pereira (*in memoriam*).

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por ter me acompanhado todo este tempo, por ter guiado minha jornada até neste momento, por nunca ter deixado eu desistir e por me mostrar que eu nunca estive sozinha.

À minha mãe, Girlanda Oliveira, pelo companheirismo, por estar ao meu lado e por me apoiar em todo o meu percurso, por se fazer presente todos os dias, mesmo a 369 km de distância. Não existem palavras o suficiente para agradecer por todo o tempo dedicado a mim e em minha instrução, por ter feito tudo isso sozinha e nunca esmorecer, por ter moldado quem eu sou como pessoa e como profissional. À minha vó, Leocélia Barbosa, por ser a melhor avó que alguém poderia ter, por toda a ajuda concedida e por todo o cuidado que tem comigo há mais de 25 anos. À todas as mulheres da minha família, vocês são o meu maior exemplo de força, sabedoria e exemplo como profissionais.

Ao meu orientador, Marco Aurélio Sartim. Agradeço imensamente por ter me orientado não somente no mestrado, mas também na vida profissional. Além de ser uma grande fonte de incentivo e por ter acreditado no meu potencial pessoal e científico (em muitos casos, até mais do que eu).

Ao grupo de pesquisa CEPCLAM, por terem me acolhido tão bem. Agradeço aos seus coordenadores, Dr. Wuelton Monteiro e Dra. Jacqueline Sachett, aos colaboradores e alunos. Vocês são incríveis. É motivador fazer parte de um grupo tão competente e comprometido.

Ao grupo de Toxinologia do CEPCLAM, Adriane Batalha, Jéssica Burlamaque, Victor Pardo, Aline Adrião, Aline Rubens, Lisele Brasileiro, David Estrada, Kamilla Freitas, Anderson Rocha, Jéssica Lobato e Kevin Lopes (*in memoriam*), com quem trabalho desde o começo do mestrado. Obrigada por todo o suporte, por todo o carinho, tenho uma grande admiração por cada um. Vocês são profissionais incríveis. Tenho muita sorte de poder dividir o mesmo espaço dentro do laboratório com cada um de vocês. Vocês certamente deixaram meu trajeto no mestrado mais leve e divertido (mesmo quando os prazos estavam apertados).

À equipe do Biorrepositório, Êndila Barbosa, Fabiane Bianca, Handerson Pereira, Suzy Gomes e Victor Pardo. Obrigada por terem ajudado fazendo minhas alíquotas. Vocês foram essenciais para a execução e conclusão desse estudo, sem vocês nada disso teria sido feito.

À toda a turma do PPGMT, ingressantes em 2021, vocês fizeram com que a jornada fosse muito mais divertida.

Aos amigos que o mestrado me proporcionou, Maianne Dias, Reinan Brotas, Ketlin Batista, Alicia Patrine e Najibe Ipiabina. Agradeço por todos os conselhos, risadas, pelos perrengues, por sempre estarem dispostos a me ouvir, pelas histórias que fazem meu dia muito mais alegre. Vocês foram as melhores pessoas que eu poderia ter conhecido e que trouxeram junto com essa interação, os melhores agregados para essa nossa vida caótica.

Aos amigos que a vida me proporcionou, Jhemerson Paes, Bianca Daniele, Evelin Mafra, Igo Said e Laucy Coelho. Vocês foram e são fundamentais em minha vida. Obrigada por todo o companheirismo e paciência, por toda a força que me deram e por nunca terem deixado eu desistir.

Ao melhor amigo que eu poderia ter, ao meu companheiro de vida, Thiago Oliveira Ramalho. Agradeço por todo o cuidado comigo, por todos os conselhos, por toda a sua dedicação, por toda a paciência (sério, muito obrigada). Você foi e é meu pilar até aqui. Com você eu sou mais forte. Obrigada por toda a obstinação, por me fazer lutar quando eu pensei em desistir, por acreditar em mim e por me fazer ver que sim, eu consigo.

Aos meus filhos de quatro patas, Frederico e Frida, obrigada por serem meu apoio emocional. Nosso encontro é de outras vidas, eu sei. Depois de minha mãe, vocês são os seres mais importantes para mim. Eu amo vocês.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Amazonas (FAPEAM), pela concessão da bolsa durante o mestrado, me permitindo dedicação total a execução desse estudo.

À SUFRAMA, CAPES e CNPq pelos subsídios oferecidos aos estudantes do Amazonas.

A Universidade do Estado do Amazonas (UEA) e ao Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical (PPGMT), pela atenção dedicada com todos os alunos.

À Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) por fornecer a estrutura necessária ao desenvolvimento desse estudo. Agradeço aos diversos profissionais que estiveram envolvidos e contribuíram para a execução do projeto guarda-chuva (em especial as equipes de enfermagem e aos técnicos de laboratório por toda a parceria).

Aos pacientes que aceitaram em participar do projeto. Espero poder contribuir na vida de cada um com os resultados aqui obtidos, assim como vocês contribuíram com a conclusão desse estudo.

## **DECLARAÇÃO DAS AGÊNCIAS FINANCIADORAS**

Este estudo foi apoiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), responsável pelo pagamento da bolsa de mestrado e pelo financiamento do projeto guarda-chuva intitulado “Avaliação do perfil clínico-inflamatório dos acidentes botrópicos”, no qual este estudo faz parte. Chamada Pública EDITAL N. 002/2021 - PROGRAMA AMAZÔNIDAS e RESOLUÇÃO N. 008/2021 POSGRAD UEA Edição 2021.

**EPIGRAFE**

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para  
que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser,  
mas Graças a Deus, não sou o que era antes.”

(Marthin Luther King)

## RESUMO

Envenenamentos por serpentes do gênero *Bothrops* são caracterizados por distúrbios de coagulação, responsáveis por eventos trombóticos e sangramentos. A microangiopatia trombótica (MAT) é um distúrbio de coagulação reportado nos envenenamentos botrópicos, sendo caracterizada pela deposição de microtrombos na circulação e anemia hemolítica, com possível evolução para injúria renal. Na região amazônica, a espécie *Bothrops atrox* é a principal responsável pelos envenenamentos ofídicos, porém nenhum estudo clínico foi conduzido para investigar a MAT associada a estes casos. O presente estudo tem o objetivo de estimar a frequência de MAT e identificar os fatores a ela associadas em pacientes vítimas de envenenamentos botrópicos numa unidade de referência em Manaus, na Amazônia Brasileira. Trata-se de um estudo descritivo observacional, realizado com pacientes vítimas de envenenamento botrópico atendidos na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) no período de julho de 2021 a novembro de 2022. Foram coletados dados clínico-laboratoriais e obtidas amostras de sangue venoso dos pacientes na admissão (T0 – antes do tratamento antiveneno), 24h (T1), 48h (T2), 72h (T3) e 7 dias após o tratamento antiveneno. O diagnóstico de MAT foi definido pela diminuição nos valores de hemoglobina, trombocitopenia e presença de esquizócitos no esfregaço sanguíneo. Dos 80 pacientes incluídos no estudo, 10 foram diagnosticados com MAT (12,5%). Todos os pacientes com MAT eram do sexo masculino, com idade média de 51 anos ( $\pm 17,2$ ). Na admissão, a frequência de incoagulabilidade sanguínea e trombocitopenia, e os parâmetros hematológicos foram semelhantes nos grupos com e sem MAT. Não houve diferença significativa entre os grupos na distribuição de sexo, idade, área de ocorrência, região anatômica da picada, gravidade do envenenamento, tempo até atendimento médico, história de envenenamento prévio e uso de medicamento antes da admissão. Os fatores associados ao desenvolvimento de MAT foram sangramento no local da picada (OR=11,56, IC95%=2,24-59,54;  $P=0,003$ ), oligúria/anúria ( $P=0,03$ ), infecção secundária (IS) ( $P=0,012$ ) e insuficiência renal aguda (IRA) (OR=8,67, IC95%=1,83-41,17;  $P=0,024$ ). O tempo de hospitalização (em dias) foi significativamente maior para os pacientes que evoluíram para MAT (6,3 $\pm$ 4,5 versus 11,0 $\pm$ 3,6;  $P<0,001$ ). Não houve diferenças entre MAT e outras manifestações locais ou sistêmicas, ainda, os pacientes hipertensos (20%) apresentaram um risco 2,25 vezes maior de desenvolver MAT, onde desses pacientes todos desenvolveram IRA. A frequência de pacientes com contagem de esquizócitos  $\geq 1\%$  foi significativamente maior no grupo com MAT em T1 ( $P<0,001$ ) e T3 ( $P<0,001$ ). Observou-se uma maior diminuição nos valores dos parâmetros hematológicos e contagem de plaquetas durante o seguimento para o grupo com MAT,

atingindo valores menores que os de referência de forma mais precoce para este grupo. Os níveis de hemoglobina foram significativamente menores em T2 ( $P=0,02$ ) e T3 ( $P=0,01$ ) para o grupo MAT. O valor de hematócrito foi significativamente menor em T2 para o grupo MAT ( $P=0,02$ ). A contagem de plaquetas foi significativamente menor para o grupo MAT em T2 ( $P=0,00$ ), T3 ( $P=0,03$ ) e T4 ( $P<0,00$ ). Em T2, o níveis de creatina e ureia foram significativamente maiores no grupo MAT ( $P<0,001$ ). Dos 40% casos de IRA no grupo MAT, 10% foram classificados no estágio leve, 20% classificados como moderado e 10% dos casos foi grave; no grupo sem MAT a IRA foi reportada em 7,14% dos casos, sendo 5,71% dos casos foram leves e 1,43% dos casos foi moderado. Não houve registro de óbitos nos pacientes deste estudo. Em conclusão, 1) a MAT é uma complicação frequente nos envenenamentos botrópicos na Amazônia brasileira, sendo diagnosticada mesmo em pacientes que receberam tratamento antiveneno em tempo oportuno; 2) existe uma associação entre MAT e infecção secundária, cujo mecanismo subjacente necessita de investigação; e 3) existe uma associação entre MAT e IRA, com importante repercussão no tempo de hospitalização do paciente. Este é um estudo pioneiro na estimativa da frequência e fatores associados com MAT nos envenenamentos botrópicos, chamando a atenção para a necessidade de incorporação do diagnóstico desta complicação no plano de manejo dos pacientes visando à prevenção de desfechos desfavoráveis para o paciente.

**Palavras-chave:** *Bothrops atrox*, microangiopatia trombótica, infecção secundária, insuficiência renal aguda.

## ABSTRACT

Snakebite envenomings by *Bothrops* genus snakes are characterized by coagulation disorders, leading to thrombotic events and bleeding. Thrombotic microangiopathy (TMA) is a coagulation disorder reported in botropic envenomings, characterized by the deposition of microthrombi in the circulation and hemolytic anemia, with possible progression to renal injury. In the Amazon region, *Bothrops atrox* is the main species responsible for ophidian envenomings, but no clinical study has been conducted to investigate TMA associated with these cases. This study aims to estimate the frequency of MAT and identify factors associated with it in patients affected by botropic envenomation in a reference unit in Manaus, Brazilian Amazon. It is a descriptive observational study conducted with patients affected by botropic envenomation treated at the Foundation of Tropical Medicine Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) from July 2021 to November 2022. Clinical and laboratory data were collected, and venous blood samples were obtained from patients at admission (T0 - before antivenom treatment), 24 hours (T1), 48 hours (T2), 72 hours (T3), and 7 days after antivenom treatment. The diagnosis of TMA was defined by a decrease in hemoglobin values, thrombocytopenia, and the presence of schistocytes in the blood smear. Among the 80 patients included in the study, 10 were diagnosed with TMA (12.5%). All patients with TMA were male, with a mean age of 51 years ( $\pm 17.2$ ). Upon admission, the frequency of blood incoagulability and thrombocytopenia, as well as hematological parameters, were similar between the groups with and without TMA. There was no significant difference between the groups regarding gender distribution, age, occurrence area, anatomical region of the bite, severity of envenoming, time to medical care, history of previous envenoming, and medication use before admission. The factors associated with the development of TMA were bleeding at the bite site (OR=11.56, CI95%=2.24-59.54;  $P=0.003$ ), oliguria/anuria ( $P=0.03$ ), secondary infection (SI) ( $P=0.012$ ), and acute kidney injury (AKI) (OR=8.67, CI95%=1.83-41.17;  $P=0.024$ ). The hospitalization time (in days) was significantly longer for patients who progressed to TMA ( $6.3\pm 4.5$  versus  $11.0\pm 3.6$ ;  $P<0.001$ ). There were no differences between TMA and other local or systemic manifestations. Furthermore, hypertensive patients (20%) had a 2.25 times higher risk of developing TMA, and among these patients, all of them developed AKI. The frequency of patients with schistocyte count  $\geq 1\%$  was significantly higher in the TMA group at T1 ( $P<0.001$ ) and T3 ( $P<0.001$ ). A greater decrease in hematological parameters and platelet count was observed during follow-up for the TMA group, reaching values lower than the reference values earlier in this group. Hemoglobin levels were

significantly lower at T2 ( $P=0.02$ ) and T3 ( $P=0.01$ ) for the TMA group. Hematocrit value was significantly lower at T2 for the TMA group ( $P=0.02$ ). Platelet count was significantly lower for the TMA group at T2 ( $P=0.00$ ), T3 ( $P=0.03$ ), and T4 ( $P<0.00$ ). At T2, creatinine and urea levels were significantly higher in the TMA group ( $P<0.001$ ). Among the cases of AKI in the TMA group, 10% were classified as mild, 20% as moderate, and 10% as severe; in the group without MAT, AKI was reported in 7.14% of the cases, with 5.71% being mild and 1.43% being moderate. No deaths were recorded in the patients of this study. In conclusion, 1) TMA is a frequent complication in botropic envenomings in the Brazilian Amazon, being diagnosed even in patients who received timely antivenom treatment; 2) there is an association between TMA and secondary infection, whose underlying mechanism needs further investigation; and 3) there is an association between TMA and AKI, with a significant impact on patient hospitalization time. This is a pioneering study estimating the frequency and associated factors of TMA in botropic envenomings, highlighting the need to incorporate the diagnosis of this complication into the patient management plan to prevent unfavorable outcomes for the patient.

**Keywords:** *Bothrops atrox*, thrombotic microangiopathy, secondary bacterial infection, acute kidney injury.

## RESUMO LEIGO

A cobra jararaca é responsável por cerca de 90% das picadas na Amazônia brasileira, causando distúrbios que acabam descompensando o organismo das vítimas em razão de suas picadas. Um desses distúrbios, a microangiopatia trombótica (MAT), é caracterizado pela deposição de microtrombos nos vasos sanguíneos, causando diversas complicações. A MAT é pouco reportada nesses acidentes, sendo seu diagnóstico em vítimas de picada de jararaca na região Norte ainda não avaliado. Neste trabalho, foi realizado o estudo para saber se a MAT está ligada a mudanças sanguíneas em pacientes vítimas de envenenamento por jararaca no Amazonas. Foram coletadas amostras de sangue dos pacientes que se voluntariaram em participar do estudo, para a confecção de lâminas de sangue para a pesquisa de alterações no formato das hemácias, em busca de hemácias fragmentadas, evidenciando um quadro de anemia hemolítica e relacionando isso com a diminuição do valor de plaquetas. Com os resultados apresentados nesse trabalho, foi possível observar pela primeira vez o evento de microangiopatia trombótica em pacientes vítimas de picada de jararaca na Amazônia brasileira, também foi possível observar que esse evento é associado a maiores chances de desenvolvimento de problemas renais e infecção secundária. Com isso, os dados obtidos, tornam-se de grande importância, como forma de chamar atenção a esse tipo de distúrbio durante a internação do paciente.

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

% - porcentagem

AHM – Anemia Hemolítica Microangiopática

AM – Amazonas

ASP – Projeto “Picada de Serpente Australiana” (do inglês *The Australian Snakebite Project*)

AVC – Acidente Vascular Cerebral

AVCH – Acidente Vascular Cerebral Hemorrágico

AVCi – Acidente Vascular Cerebral Isquêmico

C3 - Componente 3 do complemento

CAAE – Certificado de Apresentação de Apreciação Ética

CCIV – Coagulopatia de consumo induzida por veneno

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

CEPCLAM – Centro de Pesquisa Clínica em Envenenamento por Animais

CFB – Fator B do complemento

CFH – Fator H do complemento

dL – Decilitro

DTNs – Doenças Tropicais Negligenciadas

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

Fator II - Protrombina

Fator X - Protrombinase

FMT-HVD – Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado

g – Grama

HELLP – Hemólise, enzimas hepáticas elevadas e baixa contagem de plaquetas

ICSH – Conselho Internacional de Padronização em Hematologia (do inglês *International Council for Standardization in Haematology*)

IQ – Intervalo interquartil

IRA – Insuficiência Renal Aguda

LDH – Lactato Desidrogenase

MAT – Microangiopatia Trombótica

MCP – proteína cofator de membrana (CD46)

mg – Miligrama

mL – Mililitro

mm<sup>3</sup> - Milímetros cúbicos

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – Reação em cadeia da polimerase

PIII – Metaloproteinases de classe III

PLA2 – Fosfolipases A2

POP – Procedimento Operacional Padrão

PTT – Purpura Trombocitopênica Trombótica

SHU – Síndrome Hemolítica Urêmica

SINAN – Sistema de Informações de Agravos e Notificações

STEC – Toxina *Shiga* – produzida por *Escherichia coli*

SVMPs – Metaloproteinases

SVSPs - Serinoproteases

TAP – Tempo de Atividade de Protrombina

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

THBD – Trombomodulina

TRS – Terapia Renal Substitutiva

VICC - Venom Induced Consumption Coagulopathy

U/L – Unidade internacional por litro

µL – Microlitro

UPCCB – Unidade de Pesquisa Clínica Carlos Borborema

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Distribuição espacial dos envenenamentos botrópicos no Brasil registrados em 2021	2
<b>Figura 2:</b> Serpentes envolvidas nos envenenamentos em humanos na Amazônia Brasileira	3
<b>Figura 3:</b> Distribuição dos envenenamentos ofídicos no Estado do Amazonas segundo o gênero da serpente envolvida, de acordo com os dados do SINAN (2021)	4
<b>Figura 4:</b> Complicações locais e sistêmicas decorrentes de envenenamento botrópico	6
<b>Figura 5:</b> Distribuição das famílias de toxinas presentes na peçonha de <i>B. atrox</i> utilizando uma abordagem proteômica <i>shotgun</i>	13
<b>Figura 6:</b> Mecanismo para o desenvolvimento de MAT	17
<b>Figura 7:</b> Lâmina de paciente com diagnóstico de microangiopatia trombótica devido envenenamento ofídico	22
<b>Figura 8:</b> Analisador hematológico Cell-Dyn Ruby	23
<b>Figura 9:</b> Analisador bioquímico CMD 600i	24
<b>Figura 10:</b> Envenenamento e botrópico com infecção secundária	26
<b>Figura 11:</b> Fluxograma de inclusão dos pacientes	28
<b>Figura 12:</b> Perfil da frequência e quantificação dos esquizócitos entre os pacientes sem (sMAT) e com (cMAT) durante o acompanhamento	35
<b>Figura 13:</b> Avaliação da série vermelha em pacientes com e sem MAT ao longo do tempo	37
<b>Figura 14:</b> Avaliação do perfil plaquetário em pacientes com e sem MAT ao longo do tempo	38
<b>Figura 15:</b> Avaliação de leucócitos e neutrófilos em pacientes com e sem MAT ao longo do tempo	39
<b>Figura 16:</b> Avaliação dos parâmetros bioquímicos em pacientes com e sem MAT ao longo do tempo	40
<b>Figura 17:</b> Avaliação de TAP em pacientes com e sem MAT ao longo do tempo	41

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1:</b> Classificação dos diferentes tipos de microangiopatia trombótica e investigação diagnóstica	
11	
<b>Tabela 2:</b> Associação de variáveis epidemiológicas e microangiopatia trombótica nos pacientes	29
<b>Tabela 2:</b> Associação de variáveis epidemiológicas e microangiopatia trombótica nos pacientes (continuação)	30
<b>Tabela 3:</b> Características clínicas no momento da admissão, danos secundários decorrentes do envenenamento botrópico e tempo de hospitalização dos pacientes	33-34

**LISTA DE QUADROS**

<b>Quadro 1:</b> Efeito dos envenenamentos botrópicos de acordo com sua fisiopatologia	5
<b>Quadro 2:</b> Descrição dos exames laboratoriais	23

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1 Envenenamento Ofídico .....	1
1.1.1 Epidemiologia.....	1
1.1.2 Espécies envolvidas nos envenenamentos na Amazônia brasileira.....	3
1.1.3 Aspecto clínico dos acidentes botrópicos .....	4
1.1.4 Toxinas hemostaticamente ativas .....	7
1.1.5 Coagulopatia nos envenenamentos ofídicos.....	9
1.2 Microangiopatia trombótica.....	12
1.3 Microangiopatia trombótica nos acidentes ofídicos .....	14
1.4 Justificativa.....	17
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
2.1 Objetivo geral .....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
<b>3. MATERIAIS E MÉTODO</b> .....	<b>20</b>
3.1 Modelo de estudo.....	20
3.2 Local de estudo .....	20
3.3 Aspectos éticos .....	20
3.4 População de estudo .....	20
3.5 Coleta e processamento de amostras de sangue e dados .....	21
3.6 Diagnóstico de MAT e extensão sanguínea para pesquisa de esquizócitos .....	22
3.7 Avaliação dos parâmetros laboratoriais.....	23
3.7.1 Hemograma .....	23
3.7.2 Exames bioquímicos.....	24
3.7.3 Tempo de Atividade de Protrombina (TAP) .....	24
3.7.4 Tempo de Coagulação pelo método de Lee-White (TCLW) .....	25
3.8 Diagnóstico de Insuficiência Renal Aguda (IRA).....	25
3.9 Diagnóstico de Infecção Secundária (IS) .....	26
3.10 Análise estatística.....	26
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>28</b>
4.1 Caracterização dos pacientes .....	28
4.2 Características clinico-epidemiológicas dos pacientes.....	29

4.3 Parâmetros do diagnóstico de MAT, quantificação e frequência dos esquizócitos.....	34
4.4 Caracterização do perfil laboratorial dos pacientes durante a terapia antiveneno.....	35
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>54</b>
<b>7. LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>55</b>
<b>8. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>56</b>
<b>9. APENDICE - POP do Método May-Grunwald-Giemsa (modificado).....</b>	<b>67</b>
<b>10. ANEXOS .....</b>	<b>69</b>
a. ANEXO I - Cronograma de atividades .....	69
b. ANEXO II – Parecer do Comitê de Ética.....	70
c. ANEXO III – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE .....	74
d. ANEXO IV – Termo de Assentimento.....	80
e. ANEXO V- Formulário de Registro Clínico .....	86

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1 Envenenamento Ofídico**

#### **1.1.1 Epidemiologia**

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) são antigas problemáticas que impõem uma carga humana, social e econômica devastadora a mais de 1 bilhão de pessoas em todo o mundo, predominantemente em áreas tropicais e subtropicais entre as populações mais vulneráveis e marginalizadas. A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera os envenenamentos ofídicos um problema de saúde mundialmente negligenciado, no entanto, apenas foi caracterizado como uma DNT em 2017. O impacto social e econômico provocado pelas mortes e sequelas, que atingem principalmente jovens em idade produtiva, bem como a elevada carga de acidentes em todo o mundo, coloca o ofidismo como um problema emergente de saúde pública mundial (1,2).

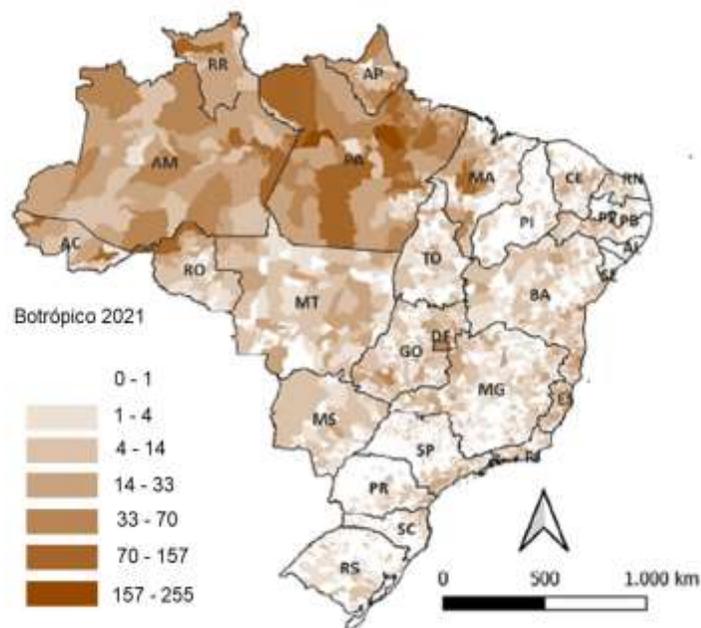
Os envenenamentos ofídicos constituem importante causa de morbidade e mortalidade, principalmente em áreas isoladas dos trópicos e subtropicais mais quentes, como a África subsaariana, sul e sudeste da Ásia, Papua Nova Guiné e América Latina. Estima-se que anualmente ocorram pelo menos 1,8-2,7 milhões de envenenamentos por picada de serpentes, com estimativas superiores combinadas de mortalidade variando de 81.410 a 137.800 mortes (3). Há uma estimativa de 132 países com incidência de envenenamentos ofídicos, embora os dados globais/regionais/nacionais possam ser incompletos ou de qualidade/completude variável (2). Ainda, de acordo com a OMS (2020), cerca de 400.000 pessoas desenvolvem algum tipo de deficiência decorrente do envenenamento por picada de serpente anualmente.

Atualmente, a OMS traça um roteiro com metas para acabar com a negligência a fim de atingir os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, por um período de nove anos (2021-2030), e os envenenamentos causados por picadas de serpente encontram-se na lista, junto com outras 19 doenças, tratando metas e marcos globais para prevenir, controlar, eliminar ou erradicar esse grupo de doenças (2).

No Brasil, os envenenamentos ofídicos representam um significativo problema de saúde pública pela frequência com que ocorrem. Em 2021 foram registrados 31.350 casos de envenenamentos

ofídicos, sendo 22.223 por serpentes do gênero *Bothrops*, representando 70,89% do total de casos de envenenamentos ofídicos no país (Figura 1), com 92 óbitos registrados e uma letalidade associada de 0,41%, de acordo com os dados disponíveis no Sistema de Informações de Agravos e Notificações (SINAN), com dados atualizados até agosto de 2022. A Região Norte é responsável por cerca de 40% de todas as notificações de envenenamento botrópico do país, com um total de 9.115 casos registrados em 2021, com incidência de 57,45 casos/100.000 habitantes, seguida da Região Nordeste (9,70/100.000). Nesse contexto, ressalta-se que ambas estas regiões juntas foram responsáveis por quase dois terços dos envenenamentos ofídicos em 2021, mesmo possuindo, juntas, apenas 36% da população brasileira (4,5).

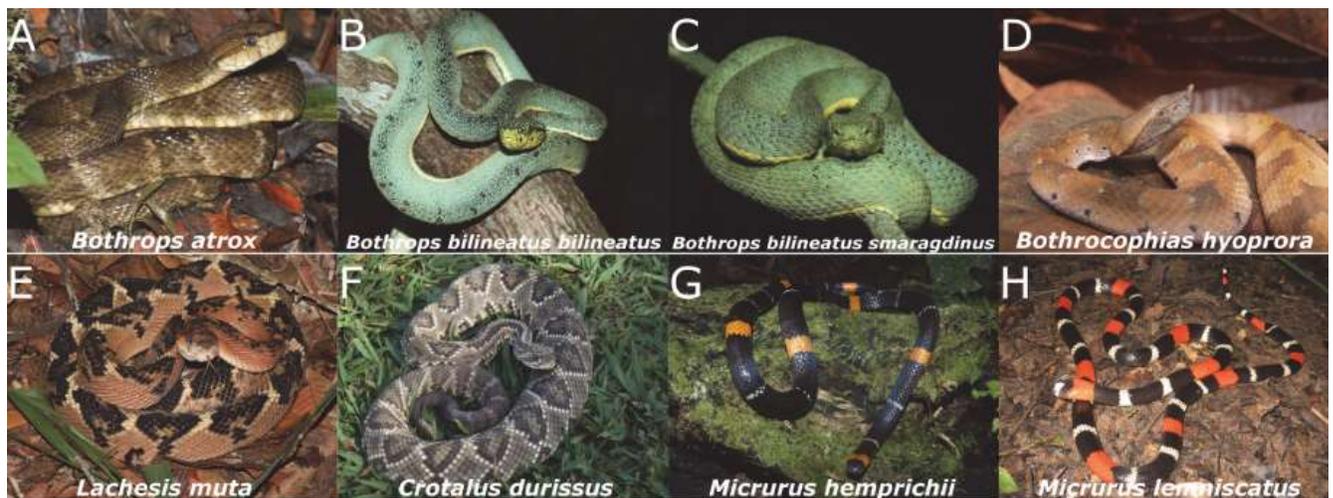
No que corresponde às notificações de envenenamento botrópico da Região Norte, estes valores podem ser mais elevados em áreas remotas da Amazônia brasileira devido a subnotificação considerável nos casos, devido as atividades rurais das vítimas, principalmente os que exercem a agricultura, caça e silvicultura, concomitante a dificuldade de acesso a unidades de saúde, e estes tornam-se os grupos mais afetados, sugerindo assim, um risco ocupacional, e associado a esse fator, possuem também uma média de tempo até a unidade de saúde muito maior quando comparado com outras regiões do Brasil (6). O estado do Amazonas possui uma incidência de 48,12 casos de envenenamentos botrópicos registrados a cada 100.000 habitantes com uma letalidade de 0,6% (7), sendo o segundo estado da Região Norte com a maior taxa de notificações de envenenamentos botrópicos (1.852 casos), ficando atrás do Pará que registrou 5.203 casos em 2021. (5).



**Figura 1:** Distribuição espacial dos envenenamentos botrópicos no Brasil registrados em 2021 (n= 22.223) (4).

### 1.1.2 Espécies envolvidas nos envenenamentos na Amazônia brasileira

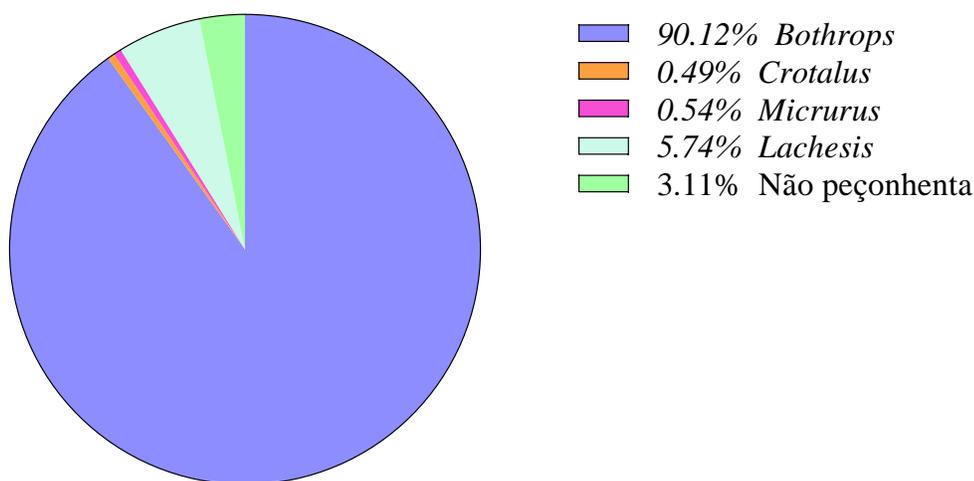
Existem cerca de 366 espécies de serpentes no Brasil, classificadas em 78 gêneros e reunidas em 10 famílias, sendo as serpentes peçonhentas correspondentes a 15% das espécies, pertencentes a duas famílias: família Viperidae, abrangendo os gêneros *Bothrops*, *Crotalus* e *Lachesis*; e a família Elapidae, correspondendo aos gêneros *Micrurus* e *Leptomicrurus* (8) (Figura 2). O gênero *Bothrops* é o principal responsável pelos envenenamentos ofídicos na Amazônia brasileira (87,0%), seguido pelo gênero *Lachesis* (7,9%), *Crotalus* (4,7%) e *Micrurus* (0,4%) (9).



**Figura 2: Serpentes envolvidas nos envenenamentos em humanos na Amazônia Brasileira.** Imagens das oito principais espécies de serpentes responsáveis por envenenamentos são mostradas (A-H): *Bothrops atrox* (A) envolvida na maioria das picadas de serpentes em humanos registrados na região da Amazônia brasileira (80% -90%), seguido por *Lachesis muta* (E) (10).

Nas áreas de floresta tropical da Amazônia brasileira são encontradas as seguintes espécies de serpentes do gênero *Bothrops*: *B. atrox*, *B. bilineatus*, *B. brazili*, *B. marajoensis* e *B. taeniatus* (11,12). A espécie *B. atrox* é a serpente mais encontrada na Amazônia, sendo a principal causadora dos envenenamentos botrópicos na região (10,13). Esta espécie está distribuída por grande parte da América do Sul, exceto no Paraguai, Argentina e Uruguai, ocorrendo predominantemente por toda a Amazônia. Trata-se de uma espécie generalista, de coloração críptica, podendo ultrapassar 1,5m de comprimento (14). Podendo ser encontrada tanto em área de floresta, quanto em áreas de pasto e agricultura, e áreas urbanas. *B. atrox* é uma serpente ativa principalmente durante a noite; o adulto caça preferencialmente

no chão, enquanto os juvenis são mais encontrados sobre a vegetação (15,16). Esta serpente é comumente conhecida como jararaca, surucucurana, surucucu, jararaca do rabo branco, surucucu-do-barranco, boca-podre e comboia (10). A composição de seu veneno é significativamente conhecida e tem sido usada para rastrear a relevância do fenótipo do veneno para a adaptação em diferentes ambientes e para a evolução das espécies de serpentes (17). Os envenenamentos botrópicos são os mais comumente registrados no Amazonas (Figura 3), representando mais de 90% de todos os casos notificados no Estado (5).



### % de casos notificados no Amazonas

**Figura 3: Distribuição dos envenenamentos ofídicos registrados no Estado do Amazonas segundo o gênero da serpente envolvida, de acordo com os dados do SINAN em 2021 (N: 2.005).** Os dados obtidos foram tabulados a partir do TabWin32 4.15, não considerando os casos em que a notificação quanto ao gênero da serpente envolvida tenha sido ignorada ou deixada em branco. Fonte: Ministério da Saúde/SINAN Net (5).

### 1.1.3 Aspecto clínico dos envenenamentos botrópicos

Os envenenamentos botrópicos são decorrentes da inoculação da peçonha, produzida por glândulas venenosas, por presas especializadas, podendo gerar alterações locais e sistêmicas na pessoa acidentada (18). Podendo manifestar-se como uma lesão hiperemiada praticamente sem dor, até lesões extremamente dolorosas e gravemente edemaciadas dentro de cinco minutos após o envenenamento. O local acometido também pode apresentar sangramento nos pontos de inoculação das presas e bolhas na pele, podendo levar à necrose tecidual. Poucas horas após o envenenamento pode aparecer

linfadenomegalia regional com gânglios aumentados e dolorosos (6). Há outros sintomas comuns, incluindo: letargia, sangramento, fraqueza, náuseas e vômitos, indicando uma reação sistêmica e maior gravidade do envenenamento. Os sintomas podem tornar-se mais graves ao longo do tempo, com sinais de hipotensão, taquipneia, taquicardia grave, hemorragia interna grave, sensibilidade alterada, insuficiência renal e falência respiratória (6,19) (Quadro 1).

**Quadro 1:** Efeito dos envenenamentos botrópicos de acordo com sua fisiopatologia.

<b>ATIVIDADES</b>	<b>EFEITOS</b>
<b>INFLAMATÓRIA AGUDA</b>	Lesão endotelial e necrose no local da picada; liberação de mediadores inflamatórios.
<b>COAGULANTE</b>	Incoagulabilidade sanguínea.
<b>HEMORRÁGICA</b>	Sangramentos na região da picada (equimose) e à distância (gengivorragia, hematúria etc.).

Fonte: Ministério da Saúde, 2019.

Na Amazônia, os dados clínicos de envenenamento por *B. atrox* mostraram a dor e edema como a manifestação local mais frequente, atingindo mais de 90% dos pacientes, a presença de equimose (8,7%), formação de bolhas (1,7%), além de casos com necrose tecidual (12,3%) e presença de celulite causada por infecção secundária bacteriana (40%), ainda podendo apresentar quadro de síndrome compartimental, déficit funcional e amputação (7,13,20,21) (Figura 4).

Em estudo conduzido por Feitosa e colaboradores (22), para um melhor conhecimento da gravidade e mortalidade por envenenamento a fim de que pudesse levar a uma melhor gestão, e reduzir as sequelas e a taxa de letalidade em locais remotos na Amazônia brasileira, observou que os fatores associados à gravidade foram idade  $\leq 15$  e  $\geq 65$  anos, vítimas provenientes da zona rural, acidentes ocupacionais e procura por assistência médica no período  $\geq 6$ h do envenenamento. As taxas de letalidade exigem manejo adequado, incluindo o encaminhamento imediato para centros terciários quando necessário, bem como uma resposta efetiva dos sistemas de vigilância e formuladores de políticas para esses grupos vulneráveis.

As principais manifestações sistêmicas são cefaleia, tontura, náuseas, vômitos, alterações da coagulação e sangramentos, podendo apresentar choque (13,16). Dentre as complicações sistêmicas

surgem a insuficiência renal aguda e septicemia (12,23), no entanto, as principais complicações são caracterizadas por distúrbios hemostáticos, que levam a um quadro de incoagulabilidade sanguínea e sangramentos (gengivorragia, hematúria, sangramento conjuntival, hematêmese e hemorragia intracraniana), insuficiência renal aguda e sepse (12).

Apesar de serem raros, na Amazônia foram descritos casos de AVC hemorrágico (24). Uma importante complicação sistêmica dos envenenamentos botrópicos é a insuficiência renal aguda (IRA), que tem grande impacto na morbimortalidade. Em recente estudo conduzido por Brasileiro-Martins e colaboradores, a IRA foi registrada em 38,56% dos pacientes atendidos em Manaus (Figura 4-C) (25) do total de 127 pacientes investigados. A isquemia, hemorragia e ação nefrotóxica direta do veneno podem estar implicadas no desenvolvimento da IRA (22).



**Figura 4: Complicações locais e sistêmicas decorrentes de envenenamento botrópico.** A- Envenenamento na mão direita, com presença de bolhas e evoluindo para necrose no dedo indicador 5 dias após o envenenamento; B- Presença de equimose e infecção secundária; C- Paciente realizando terapia de substituição renal devido a IRA decorrente do envenenamento; D- Envenenamento em membro inferior direito, com presença de edema e bolhas sero-hemorrágicas; E- Paciente apresentando abscesso e celulite por infecção bacteriana secundária na região dorsal do pé esquerdo, 48h após a picada (12); F- Síndrome compartimental em extensão do membro inferior esquerdo, pós-fasciotomia (17). Fonte: CEPCLAM.

#### 1.1.4 Toxinas hemostaticamente ativas

O aparecimento de distúrbios hemostáticos nos envenenamentos ofídicos é induzido por uma complexa mistura de componentes presentes nas peçonhas de serpentes (26). A composição dos venenos de serpentes apresenta alta complexidade e diversidade (27), resultando em um perfil bioquímico e toxicológico variável, determinando uma ampla gama de manifestações clínicas.

A variabilidade do veneno botrópico está relacionada com a idade, sexo, variação geográfica e dieta, e está principalmente associado ao nível de expressão de cada grupo de toxinas, do que à presença ou ausência das famílias de proteínas do veneno (28–31). Em estudo conduzido por López-Lozano e colaboradores, foi observado diferenças notáveis nas atividades biológicas de *B. atrox* juvenis e adultas da região de Manaus, Brasil, mostrando que a atividade coagulante do plasma humano foi maior em venenos de espécies juvenis, do que em adultas (32). Outros estudos envolvendo a ação biológica do veneno de *B. atrox* foram conduzidos na Amazônia colombiana, onde notou-se que o veneno das *Bothrops* juvenis possui maior atividade hemorrágica e coagulante, quando comparada as adultas (33).

Algumas toxinas do veneno provocam dano tecidual local, muitas vezes resultando em sequelas permanentes, enquanto outras induzem efeitos sistêmicos, incluindo manifestações neurotóxicas (levando, a paralisia respiratória, por exemplo), sangramento, IRA, rabdomiólise (causando uma ruptura generalizada nas fibras musculares), cardiotoxicidade ou trombose. A *B. atrox* pertence à família Viperidae (viperídeos), causando efeitos locais e manifestações sistêmicas associadas com sangramento, coagulopatia e choque hipovolêmico (3).

As toxinas do veneno da *B. atrox* apresentam uma composição variada, sendo constituída principalmente por proteínas e peptídeos bioativos. Entre as classes de toxinas presentes, podem-se citar: as metaloproteinasas (SVMPs), que no envenenamento botrópico são bem caracterizadas, além de possuir muitos genes parálogos, de alta versatilidade na funcionalidade (34–37). É a classe de toxina de maior abundância em *B. atrox*, possuindo zimogênios de três classes (PI, PII e PIII) (38), tem potencial de causar distúrbios na hemostasia, pois o mecanismo pró-coagulante deste grupo de toxina é a ativação direta dos fatores X e II, resultando em formação de trombina endógena (39,40). O alvo principal das SVMPs hemorrágicas é nas proteínas da matriz extracelular e basal, tendo forte ligação com colágeno.

Dessa forma, agem no endotélio, lesando os vasos capilares, levando a hemorragias. Também possuem ação sobre o epitélio, levando a formação de bolhas através do mesmo mecanismo de ruptura de membrana basal (41–43).

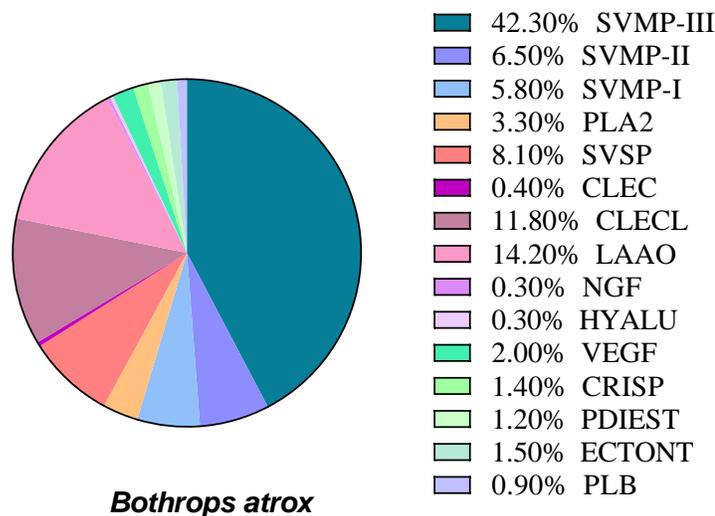
Outra classe em destaque, são as serinoproteases (SVSPs), que possuem alvo principal na cascata de coagulação. Essas toxinas são denominadas como semelhantes à trombina (*trombin-like* - TLE), ou seja, hidrolisam diretamente fibrina, mesmo na ausência de cálcio (17), ou fibrinogenases, geralmente clivando a cadeia- $\alpha$  ou a cadeia- $\beta$  de fibrinogênio para obter fibrinopeptídeo A ou B, resultando em um consumo de fibrinogênio sem formação de fibrina (44), ou formando uma rede de fibrina frágil, sem estabilização dos fatores XIII e XIIIa, levando ao quadro de incoagulabilidade sanguínea (45). As SVSPs atuam principalmente na cascata de coagulação, tendo efeito pró-coagulante e/ou anticoagulante. As proteases são distinguidas entre as enzimas capazes de ativar os fatores II, VII e/ou X e as TLE, além de possuir atividade de fibrinogênólise direta, ativando proteína C e plasminogênio, inibindo antitrombina, inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1 (PAI-1) e a nível de plasmina (pela  $\alpha$ 2-antiplasmina,  $\alpha$ 2AP). Entre a classe de SVSPs isoladas do veneno de *Bothrops*, as mais frequentes são as TLE e com efeito fibrinogenolítica (46–48).

Outra classe de toxinas presente no veneno de *B. atrox* são as lectinas do tipo C (CLEC), uma classe de toxinas não enzimática, que se ligam a mono e oligossacarídeos de maneira dependente de cálcio, e são distinguidos entre CLEC clássicos, possuindo um domínio de reconhecimento de carboidratos que se liga a açúcares e proteínas relacionadas à lectina do tipo C não ligantes de açúcar (CLECL), também chamadas de *Snacles*, e estas por sua vez, são as classes mais abundantes encontradas nas peçonhas de *B. atrox*, capazes de inibir fator IIa possuindo efeito anticoagulante, além de atuar principalmente nas plaquetas, inibindo a agregação via colágeno em caso de lesão endotelial (35,37,48,49).

Ainda pode-se citar a classe das fosfolipases A2 (PLA2s), que constituem uma família de enzimas que hidrolisam fosfolipídios, sendo consideradas proteínas-chave nos processos inflamatórios induzidos por venenos de serpentes pelo seu efeito sobre o ácido araquidônico (ARA), um substrato para a biossíntese de vários mediadores lipídicos incluindo o tromboxano A2 (TXA<sub>2</sub>) que atua como um agregante plaquetário (50); além desses tipos de toxinas, também pode-se citar a L-aminoácido oxidase (LAO), envolvida na inibição da agregação plaquetária (26).

Os componentes das peçonhas são classificados de acordo com as atividades que exercem sobre o sistema hemostático: em coagulantes e anticoagulantes (quando atuam na coagulação), e agregantes e antiagregantes plaquetários (que agem sobre as plaquetas) e hemorrágicos (quando causam lesão vascular) (51). Em geral, peçonhas do gênero *Bothrops* possuem ação direta sobre o fibrinogênio, ativam os fatores II e X, induzem agregação de plaquetas, e causa lesão no endotélio vascular (47).

Um estudo realizado por Souza e colaboradores (37), com intuito de realizar comparação da filogenia, composição do veneno e neutralização por antivenenos de diversas espécies de *Bothrops*, constatou que as metaloproteinases consistem na classe de toxinas mais abundantes na peçonha de *B. atrox*, sendo a classe PIII de maior concentração (42.30%), seguida das LAAOs (14.20%), CLECL (11.80%) e as SVSP (8.10%) (Figura 5).



**Figura 5: Distribuição das famílias de toxinas presentes na peçonha de *B. atrox* utilizando uma abordagem proteômica shotgun.** Os dados representam a média da contagem espectral total normalizada. Foram identificados: SVMP-I, SVMP-II e SVMP-III (metaloproteinase de veneno de serpente – classes P-I, P-II e P-III); PLA2 (fosfolipase A2); SVSP (serina proteinase de veneno de serpente); CLEC (lectina do tipo C); CLECL (semelhante a lectina do tipo C); LAAO (L-aminoácido oxidase); NGF (fator de crescimento nervoso); HYALU (hialuronidase); VEGF (fator de crescimento endotelial vascular); CRISP (proteína secretora rica em cisteína); PDIEST (fosfodiesterase 1); ECTONT (ecto-59-nucleotidase) e PLB (fosfolipases B). Fonte: Sousa e colaboradores (37). Adaptado por: Bentes.

### 1.1.5 Coagulopatia nos envenenamentos ofídicos

O envenenamento botrópico possuem vários alvos contra a hemostasia, atuando em processos que visam parar, ou limitar o sangramento após a lesão vascular (48). Entre a variedade dos efeitos

clínicos desencadeados pela ativação das toxinas presentes nas peçonhas de *Bothrops*, podem essencialmente ser resumidos em: I- coagulabilidade sanguínea reduzida, resultando em um aumento na tendência de sangramento; II- sangramento contínuo devido a danos em vasos sanguíneos; III- efeitos secundários devido ao aumento do sangramento, variando desde choque hipovolêmico a danos secundários a órgãos, como hemorragias intracerebrais ou deficiências renais; IV- trombose patológica direta e suas sequelas (26).

Dentre os distúrbios hemostáticos observado em envenenamentos botrópicos na Amazônia brasileira, a incoagulabilidade sanguínea é o mais comum, acometendo entre 43,1 e 61,1% das vítimas, seguido de sangramentos sistêmicos, em cerca de 15% dos pacientes (20,22). Dentre as manifestações pode-se observar nos pacientes um tempo de coagulação prolongado ou incoagulabilidade sanguínea e sangramentos como gengivorragia, hematúria, sangramento conjuntival, sangramentos em feridas recentes, equimoses à distância do local da picada, hemorragias digestivas e hemorragia intracraniana (52).

Os efeitos sobre a coagulação estão associados à capacidade de toxinas hemostaticamente ativas atuarem sobre os eventos da hemostasia, como ativação de fatores de coagulação e modulação da agregação plaquetária que induzem lesão vascular gerando hemorragias. Assim, uma coagulopatia de consumo é instalada e caracterizada por tempo de coagulação prolongada, hipofibrinogenemia e aumento de D-dímero, sendo responsável pelos quadros hemorrágicos locais e sistêmicos e/ou por eventos trombóticos (53,54).

Em vítimas de envenenamentos por serpentes *B. atrox* em Belém, na Amazônia brasileira, foram observados distúrbios na coagulação, tais como hipofibrinogenemia, ativação do sistema fibrinolítico e geração de trombina intravascular. Aproximadamente 10% dos acidentados apresentaram trombocitopenia, ou seja, número de plaquetas abaixo de 150.000/mm<sup>3</sup>, e 18% desenvolveram sangramentos sistêmicos (22).

Em um estudo recente, de Oliveira e colaboradores, foi possível observar que os pacientes vítimas de envenenamento botrópico atendidos na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), apresentaram baixas concentrações plasmáticas dos fatores V, II e fibrinogênio. Ainda, esses pacientes apresentaram altos valores de produtos de degradação de fibrina (FDP) e D-dímero, além de baixas concentrações de  $\alpha$ -2 antiplasmina e plasminogênio, todos associados com o

processo de fibrinólise. Ainda, os autores confirmaram que a redução dos níveis desses componentes está associada à incoagulabilidade dos pacientes. Ainda nesse estudo, os autores evidenciaram um aumento do fator tecidual (FT) plasmático, tornando-se o primeiro estudo que evidencia a alteração desse componente em pacientes envenenados (20).

Entre os pacientes vítimas de envenenamento botrópico, também pode-se observar a instalação de eventos trombóticos, envolvendo vasos de artérias femorais, cerebrais, miocárdicas e pulmonares, podendo levar à morte ou sequelas funcionais (48,55). Dentre estes eventos, pode-se relatar o acidente vascular cerebral (AVC), que ocorre em vítimas de envenenamento ofídico devido ação neurotóxica e/ou hemorrágica das toxinas presentes no veneno (56), podendo ser hemorrágico (AVCH) ou isquêmico (AVCi), dependendo da composição enzimática do veneno (57).

O AVCi pode causar necrose na área afetada dos tecidos cerebrais, levando a danos neurais irreversíveis (58) e é descrito sendo a complicação mais frequente do sistema nervoso central (SNC) após envenenamento por serpentes da família Viperidae (59). No entanto, as serpentes do gênero *Bothrops* tem propensão significativamente maior para AVCH quando comparados com o AVCi (60).

Em estudo conduzido por Oliveira e colaboradores, foi relatado um caso fatal de AVCH após envenenamento botrópico em uma paciente do sexo feminino de 59 anos de idade admitida na FMT-HVD, apresentando quadro de edema, dor e equimoses no pé direito, cefaleia, náuseas, diarreia, hipertensão e incoagulabilidade sanguínea, após envenenamento botrópico. Os autores relatam que o caso evoluiu com AVC resultando em óbito, apesar da soroterapia e da terapia conservadora terem sido empregadas. A autópsia revelou hemorragia subaracnóideia e intraparenquimatosa, e determinou a hipertensão intracraniana como causa da morte. Também foi possível identificar presença de veneno no tecido cerebral da paciente através de ensaios imuno-histoquímicos. Nesse contexto, a ação direta das toxinas presentes no veneno da serpente, levaram a indução da hemorragia sistêmica, estando aliada à incoagulabilidade sanguínea e à hipertensão apresentada pela paciente, podendo estar envolvidas no mecanismo do AVC nesse caso (61).

Ainda, de acordo com a literatura, e até onde sabe-se, nove casos de AVCi por *Bothrops spp.* foram registrados no mundo (57,62–66). Mais recentemente Martínez-Villota *et al.* (63), reportou um caso de AVCi decorrente do envenenamento botrópico, em um paciente do sexo masculino de 50 anos de idade, na Colômbia. No momento da admissão o paciente apresentou perda da consciência e

necessitou de assistência ventilatória mecânica. Na ressonância magnética realizada, foram identificadas múltiplas áreas isquêmicas nas regiões frontal-temporal e occipital bilaterais. O paciente permaneceu hospitalizado por mais dois meses, no entanto, desenvolveu paresia bilateral nos nervos cranianos II e IV, e persistiu com uma força de 2/5 no lado esquerdo (63). No Brasil, até o momento, não há casos registrados de AVCi decorrentes de envenenamento botrópico.

A coagulopatia, apesar de ser uma das complicações mais comuns e clinicamente significativas no envenenamento, devido aos efeitos das toxinas atuando sobre a hemostasia, pode resultar em hemorragia e morte com risco de vida, e mais recentemente, houve o reconhecimento de uma síndrome trombótica ocorrendo em pacientes que desenvolveram coagulopatia, conhecida como microangiopatia trombótica (67).

## **1.2 Microangiopatia trombótica**

A microangiopatia trombótica (MAT) nomeia um grupo heterogêneo e diversificado de síndromes trombóticas, as quais podem ser primárias ou secundárias, hereditárias ou adquiridas, de início súbito ou insidioso. Apesar de sua diversidade, esse grupo é unido por características clínicas e patológicas comuns e definidoras. As características clínicas incluem anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e lesão isquêmica em órgão (68).

O termo MAT foi utilizado pela primeira vez em 1952, para descrever os achados *post-mortem* de “trombose disseminada nos vasos de menor calibre”, a respeito do caso identificado por Eli Moschowitz em 1924, que descreveu o caso de uma adolescente de 16 anos com fraqueza, palidez, púrpura e hemiparesia que veio a óbito após 14 dias com insuficiência cardíaca. A autópsia relevou trombos hialinos nas arteríolas terminais e capilares na maioria dos órgãos, incluindo os rins. Tratando-se do primeiro caso registrado de Purpura Trombocitopênica Trombótica (PTT), considerada uma microangiopatia trombótica primária (69,70).

O processo patológico da MAT caracteriza-se por trombose microvascular, oclusiva, generalizada, predominantemente venosa ou capilar (71–73), tendo como causa subjacente a anormal agregação de plaquetas ou a lesão e ativação de células endoteliais. Como características histológicas

típicas, destacam-se o espessamento da parede vascular com edema do endotélio, destacamento das células endoteliais da membrana basal, necrose fibrinóide da parede vascular e formação de microtrombos ricos em fibrina e plaquetas (74). Dependendo dos sistemas vasculares envolvidos, podem ocorrer IRA, sintomas neurológicos, complicações cardíacas, insuficiência respiratória, distúrbios visuais, pancreatite, isquemia intestinal e (menos comumente) alterações cutâneas (69,75).

Embora rara, a microangiopatia trombótica é uma condição de risco de vida que requer tratamento urgente, pois a mortalidade é alta, de acordo com os relatórios publicados, entre 72-94% dos casos (76,77). Apesar dos sintomas apresentados por serem inespecíficos, mas com os achados laboratoriais é possível revelar uma condição específica de trombocitopenia e anemia com fragmentação de hemácias no esfregaço sanguíneo e evidência de hemólise (68).

Microangiopatia trombótica é um termo abrangente para descrever qualquer processo patológico, caracterizado por trombocitopenia e anemia hemolítica microangiopática. Esses distúrbios podem ser divididos em primário e secundário. As MATs primárias são classificadas em: Purpura Trombocitopênica Trombótica (PTT) e Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU), estas, ocorrem espontaneamente sem causa subjacente associada. As formas secundárias ocorrem em contexto de gravidez, doenças autoimunes, transplante de medula óssea ou uso de certos medicamentos, por exemplo (Tabela 1) (70,78).

A abordagem para a identificação de presença de MAT, consiste na caracterização da seguinte tríade: presença de trombocitopenia absoluta (contagem de plaquetas abaixo de  $150.000\text{mm}^3$ ), ou relativa (redução de  $>25\%$  na contagem de plaquetas desde o primeiro momento); anemia hemolítica microangiopática (AHM), sendo diagnosticada quando há evidência de anemia (hemoglobina  $<13,5\text{mg/dl}$  para os homens, e  $<11,5\text{mg/dl}$  para as mulheres) (79) e hemólise, concomitantes; além da presença de esquizócitos em esfregaço sanguíneo – no contexto clínico apropriado, é considerado patológico quando há presença de mais de dois esquizócitos por campo, ou mais de 1% de esquizócitos em uma lâmina (68,80,81).

O Conselho Internacional de Padronização em Hematologia (ICSH), define os esquizócitos como “os menores eritrócitos (hemácias) intactos e podem ter a forma de fragmentos com ângulos agudos e bordas retas, pequenos crescente, células em capacete, ceratócitos” (82), eles geralmente não possui palidez central e podem ter formas triangulares irregulares e projeções pontiagudas (Figura 6)

Outros achados laboratoriais que podem estar alterados em pacientes com microangiopatia trombótica são reticulocitose, lactato desidrogenase (LDH) elevada, hiperbilirrubinemia não conjugada e baixa haptoglobina, além disso, os testes de coagulação (TC), tempo de protombina (TAP) e tempo parcial de tromboplastina (TTPa) geralmente são normais, mas podem se tornar incoaguláveis em pacientes com doença muito grave, aos quadros associados à coagulação intravascular disseminada (83).

**Tabela 1:** Classificação dos diferentes tipos de microangiopatia trombótica e investigação diagnóstica.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	TESTE DIAGNÓSTICO
<b>MICROANGIOPATIA TROMBÓTICA PRIMÁRIA</b>	
<b>PTT</b>	
PTT congênita	• Mutações do gene <i>ADAMTS13</i> (78)
PTT adquirida	• Atividade e inibidor de ADAMTS13 (78,83,84)
<b>SHU</b>	
SHU-STEPC	• PCR para a toxina Shiga, ou cultura de fezes para STEC ou <i>Shigella</i> (85,86)
SHU atípica	• Mutação genética nas proteínas reguladoras do complemento (e.g., CFH, CFI, MCP, C3, CFB, THBD; (87,88) anti-CFH autoanticorpos (89)
<b>MICROANGIOPATIA TROMBÓTICA SECUNDÁRIA</b>	
Hipertensão maligna	• Pressão arterial e função renal • Investigação de outras causas da MAT associadas a hipertensão arterial
MAT associada a gravidez, pré-eclâmpsia, eclâmpsia, HELLP	• Níveis elevados de transaminases hepáticas
Coagulação intravascular disseminada	• Teste de coagulação anormal • Avaliar as causas subjacentes (exemplo: sepse) (90)

**Fonte:** Arnold *et. al*, 2019; **Legenda:** C3: componente 3 do complemento; CFB: fator B do complemento; CFH: fator H do complemento; HELLP: hemólise, enzimas hepáticas elevadas e baixa contagem de plaquetas; MCP: proteína cofator de membrana (CD46); PCR: reação em cadeia da polimerase; STEC: toxina Shiga – produzida pela *Escherichia coli*; THBD: trombomodulina.

### 1.3 Microangiopatia trombótica nos envenenamentos ofídicos

Apesar de ainda pouco estudados, os eventos trombóticos em pacientes vítimas de envenenamento ofídico são manifestados através da microangiopatia trombótica (MAT), ocorrendo em alguns pacientes envenenados por espécies de serpentes associadas a anormalidades na coagulação do sangue. A MAT é um distúrbio caracterizado pela formação de coágulos sanguíneos e danos na parede dos vasos sanguíneos na circulação, acarretando em risco de lesão em órgãos vaso-oclusivos (91). Após a picada de serpente, a principal lesão de órgão-alvo reportado até o momento parece ser renal (67,92).

A MAT associada à picada de serpente foi relatada em uma ampla gama de diferentes espécies de serpentes peçonhentas e países em todo o mundo, sendo os casos predominantes de víboras na Índia, Sri Lanka, seguidos pelas elapídeos na Austrália, com números menores em outros países (91).

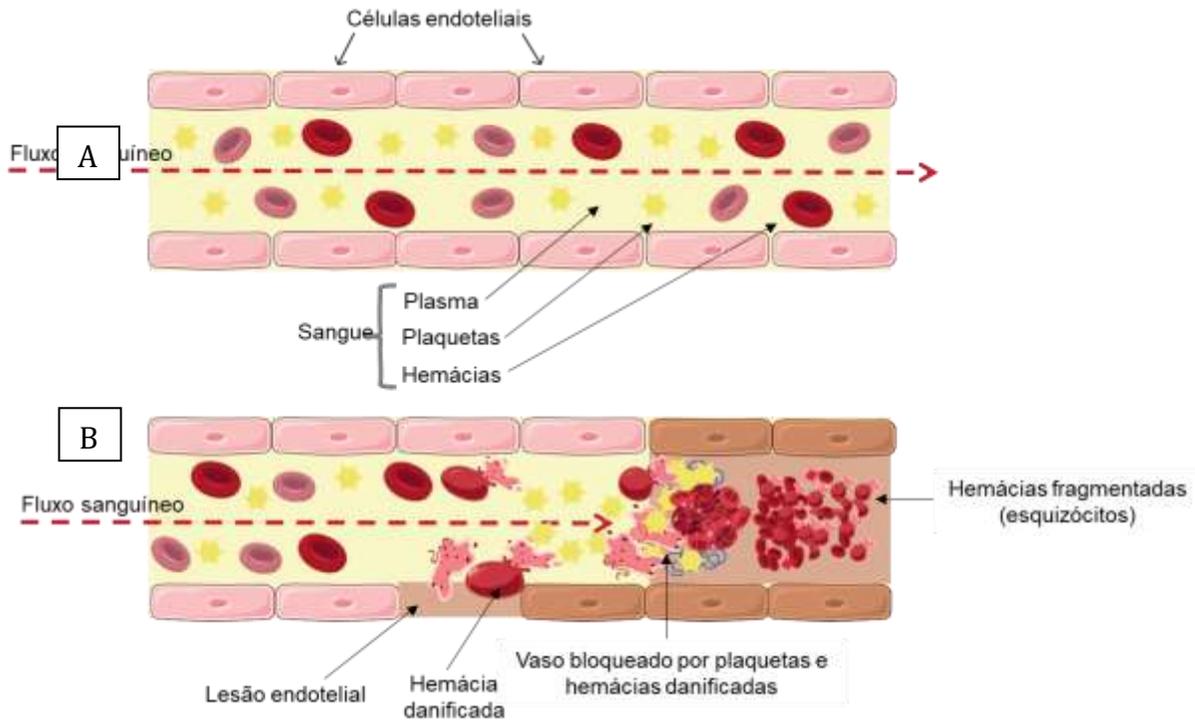
Em revisão sistemática realizada por Noutsos e colaboradores, foi possível caracterizar MAT em 371 casos, e baseado nas estimativas globais de 2,7 milhões de envenenamentos ofídicos e 81.000 a 138.000 mortes/ano atribuídas a envenenamentos ofídicos, demonstra que a MAT associada a envenenamentos ofídicos é uma condição rara (91). Um estudo prospectivo e multicêntrico intitulado “*The Australian Snakebite Project*” – (ASP), realizado de 2004 a 2018, relatou frequência de 9,0% (104 pacientes) de MAT nos pacientes do estudo (93). Em estudo realizado na Índia, foi encontrado frequência de MAT em 18,5% (19/103) dos casos e, até o momento, é a maior série de casos relatada de MAT associada a envenenamento ofídico (94).

Apesar de descrita com melhores detalhes em envenenamentos ofídicos ocorridos no sudeste asiático, a MAT ainda é pouco elucidada nos envenenamentos botrópicos, havendo apenas relatos ou séries de casos. Os dados de frequência de MAT ocorridos no Brasil decorrentes de envenenamentos ofídicos são escassos, com um caso relatado no Ceará em 2020 com a espécie *B. erythromelas*, e outros relatos envolvendo a *B. jararaca* ocorridos no Sudeste do Brasil, apresentando quadros clínicos de forma tardia (com a MAT sendo reportada entre o terceiro e sexto dia de hospitalização) e estando associados ao quadro de IRA e prolongando o tempo de hospitalização (95–97). Ainda no Brasil, algumas séries de casos foram descritas apresentando quadro de lesão em órgãos, como rins e pulmão (98,99). Em uma série de casos conduzido por Amaral e colaboradores, 22 casos no total, onde 7 foram biopsiados, foi possível constatar a presença de necrose coagulativa do parênquima renal com trombos de fibrina em capilares glomerulares e nas artérias de menor calibre quando realizada análise histológica (99). Em relato de caso conduzido por Benvenuti e colaboradores (98), quando realizada a análise histológica em

tecido subcutâneo no local da picada mostrou hemorragia, além de necrose coagulativa e trombos de fibrina em arteríola, bem como os cortes do pulmão apresentando extensa hemorragia alveolar e edema com numerosos trombos de plaquetas em capilares e vênulas, ainda constatado focos de fibrose e hemorragia intersticial no miocárdio, e múltiplos trombos de fibrina e plaquetas presentes na microcirculação.

Os achados laboratoriais para o diagnóstico de MAT nos casos relatados, revelam uma condição específica de trombocitopenia, anemia com presença de esquizócitos em esfregaço sanguíneo e evidências de hemólise – o que caracteriza um quadro de anemia hemolítica microangiopática. A presença de anemia e trombocitopenia concomitantes devem levar a solicitação para um esfregaço sanguíneo, para a procura de alterações morfológicas, em busca de esquizócitos. Outros parâmetros laboratoriais associados a MAT que estavam alterados nesses pacientes foram: lactato desidrogenase elevada, hiperbilirrubinemia, baixa haptoglobina, testes de coagulação e tempo de atividade de protrombina incoaguláveis, creatinina e ureia aumentadas, além de queda de D-dímero e fibrinogênio (95–97).

Em um estudo de Isbister *et al.* em 2007, foi relatado que 13% dos casos de envenenamento pela serpente marrom australiana (*Pseudonaja*) apresentavam características de MAT, o que foi maior do que previamente reconhecimento até então, sugerindo que a MAT poderia ter sido negligenciada na maioria dos estudos anteriores (92). Esse motivo pode ser explicado pela coexistência da coagulopatia intravascular disseminada (CID) na maioria dos casos, o que pode tornar o diagnóstico da MAT desafiador. O mecanismo exato da MAT após envenenamento ofídico não é claro, mas acredita-se que as toxinas presentes no veneno podem iniciar a MAT induzindo dano endotelial (92) (Figura 6), no entanto, é um achado que carece de maiores investigações.



**Figura 6: Mecanismo para o desenvolvimento de MAT.** A- Os vasos de menor calibre são revestidos com células endoteliais; B- Quando ocorre algum tipo de lesão nessas células, o fluxo sanguíneo diminui. O defeito no revestimento da parede desses vasos pode criar a formação de trombos, retardando o fluxo sanguíneo. Esse excesso de cisalhamento pode causar danos nas hemácias e estas podem se romper, dando formação a esquizócitos (hemácias fragmentadas). Nisso, as plaquetas também ativam e formam coágulos microvasculares. O resultado de todas essas atividades pode fechar vasos sanguíneos. O que por exemplo, pode causar lesão renal, devido à falta de fluxo sanguíneo no vaso. Fonte: UNC Kidney Center.

#### 1.4 Justificativa

Devido aos efeitos das toxinas atuando sobre a hemostasia, a coagulopatia é uma das complicações mais comuns e clinicamente significativas no envenenamento botrópico, pois pode resultar em hemorragia e posterior risco de vida a vítima. Mais recentemente, houve o reconhecimento de uma síndrome trombótica presente em pacientes que desenvolveram coagulopatia (67), sendo caracterizada pela microangiopatia trombótica (MAT), levando a deposição de microtrombos na circulação, responsável pela instalação de uma anemia hemolítica, que pode levar a lesão isquêmica do tecido (68).

A microangiopatia trombótica (MAT), apesar de ser considerada uma condição rara, requer um tratamento e manejo de forma urgente, e adequada, pois a mortalidade associada a MAT é alta, em torno de 72-94% dos casos, de acordo com Rock *et al.* (76) e Amorosi *et al.* (77). Apesar de melhor descrita

em pacientes vítimas de envenenamentos ofídicos no sudeste asiático (91), a MAT ainda é pouco elucidada nos envenenamentos botrópicos.

No Brasil, há apenas relatos de caso de algumas espécies de *Bothrops* no Sudeste e Nordeste, havendo necessidade de estudo mais robustos que possam evidenciar a frequência que essa condição ocorre em envenenamentos ofídicos no país.

Dessa forma, considerando que o diagnóstico de MAT em pacientes vítimas de envenenamentos botrópicos na região Norte do Brasil ainda é algo não avaliado, torna-se de grande relevância um estudo que seja capaz de associar os exames laboratoriais e a clínica dos envenenamentos a fim de ser realizada a busca por alterações que possam evidenciar MAT em pacientes vítimas de envenenamentos botrópicos na região Amazônica.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Estimar a frequência de MAT e identificar fatores associados à sua ocorrência em pacientes vítimas de envenenamentos por *Bothrops* num hospital de referência da Amazônia Brasileira.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar as alterações dos marcadores hematológicos, bioquímicos e de coagulação associados à MAT nos envenenamentos botrópicos;
- Avaliar a evolução dos marcadores após o tratamento antiveneno nos pacientes com MAT nos envenenamentos botrópicos;
- Verificar as complicações concomitantes à MAT nos envenenamentos botrópicos.

### **3. MATERIAIS E MÉTODO**

#### **3.1 Modelo de estudo**

Trata-se de um estudo observacional, descritivo e longitudinal, realizado com pacientes vítimas de envenenamento botrópico atendidos na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) no período de julho/21 a novembro/22.

#### **3.2 Local de estudo**

A Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) está situada no municípios de Manaus-AM, sendo um centro de referência para o tratamento de envenenamentos por animais peçonhentos no Estado do Amazonas.

#### **3.3 Aspectos éticos**

O presente estudo faz parte de um projeto guarda-chuva intitulado “Avaliação do perfil clínico-inflamatório dos envenenamentos botrópicos” o qual já foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (CEP) da FMT-HVD, com CAAE 39345520.9.0000.0005 e número do parecer 4.478.678 (ANEXO II).

#### **3.4 População de estudo**

A população do estudo consistiu em pacientes que buscaram o atendimento na FMT-HVD, no período de julho de 2021 a novembro de 2022, consistindo em uma amostragem de conveniência. Foram incluídos no estudo pacientes vítimas de envenenamento ofídico botrópico, classificados de acordo com a rotina da instituição, seguidas de acordo com protocolo do Ministério da Saúde baseado nas manifestações clínicas ou identificação da serpente agressora como do gênero *Bothrops*. Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, com idade a partir de 13 anos, que consentiram em participar do projeto, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO III). Gestantes, indígenas e pacientes vítimas de envenenamentos não botrópico não foram incluídos. Para os indivíduos

menores de 18 anos, o TCLE foi assinado pelos pais ou responsáveis e o Termos de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) foi assinado pelos menores de idade, garantido que estão cientes que participarão de um estudo e que receberão as informações necessárias, de acordo com sua faixa de idade (ANEXO IV).

Os envenenamentos foram classificados em leve, moderado e graves, e os pacientes tratados com soroterapia antiofídica de acordo com a orientação do Manual do Ministério da Saúde (5). Os pacientes incluídos foram acompanhados por um período de até 7 dias, onde foram realizadas avaliações clínicas e laboratoriais em 5 momentos, sendo elas, antes da soroterapia (T0), 24 horas (T1), 48 horas (T2), 72 horas (T3) e sétimo dia (T4) após a administração do soro antiofídico – pacientes que realizarem soroterapia previamente em outra unidade também foram admitidos no estudo, desde que haja o consentimento prévio destes, nesse caso, o paciente entrará no tempo T1 a contar do horário de soroterapia realizado.

### **3.5 Coleta e processamento de amostras de sangue e dados**

De cada paciente, foram coletados aproximadamente 15mL de sangue periférico por punção venosa, em tubos vacutainer contendo EDTA (5mL), citrato de sódio (5mL) ou sem anticoagulante (5mL) (BD Vacutainer® EDTA K2, citrato e SST-II Advance, respectivamente) para obtenção de plasma ou soro. O sangue foi coletado na admissão (previamente a soroterapia), além de 24, 48, 72h e 7 dias após a soroterapia. Após a coleta, o material foi levado ao Laboratório Multidisciplinar da Unidade de Pesquisa Clínica Carlos Borborema (UPCCB) onde foi processado (centrifugação 1.500 RPM, por 15 minutos, seguida de centrifugação a 2500 RPM por 15 minutos) para obtenção do plasma e soro. Após coletado, amostras de plasma e soro foram armazenadas em freezer a -80°C.

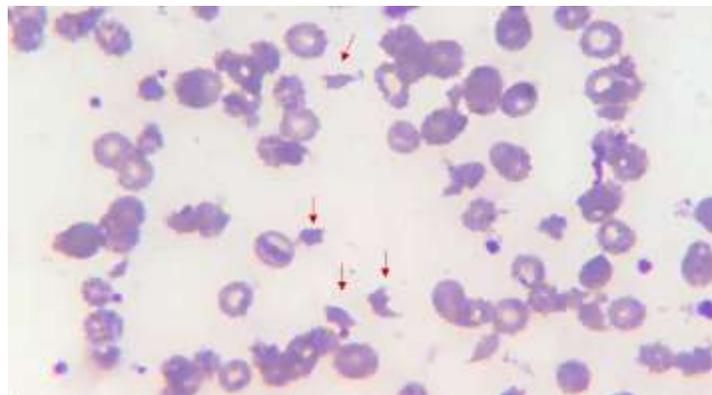
Os dados clínicos-epidemiológicos dos pacientes e exames laboratoriais de rotina foram obtidos nos prontuários físicos e Formulário de Registro Clínico do estudo, além do prontuário eletrônico (Sistema iDoctor) da FMT-HVD. Após os dados serem coletados, estes foram armazenados no RedCap, uma plataforma para coleta, gerenciamento e disseminação de dados de pesquisa.

Para maior detalhamento sobre os seguimentos dos pacientes, consultar o Formulário de Registro Clínico (ANEXO V).

### 3.6 Diagnóstico de MAT e extensão sanguínea para pesquisa de esquizócitos

A MAT foi diagnosticada de acordo com critérios seguindo recomendações de prática clínica descrito por Noutsos e colaboradores (62), onde foram caracterizados pela diminuição nos valores de hemoglobina (inferior a 13,5g/dL para homens e 11,5g/dL para mulheres), trombocitopenia (plaquetas  $<150.000/\text{mm}^3$ ) e presença de esquizócitos ( $\geq 1\%$  por campo na extensão sanguínea), assim, os pacientes que apresentaram as alterações mencionadas em algum momento da internação, foram diagnosticados com MAT.

Para a contagem de esquizócitos, as amostras de sangue total coletadas com EDTA foram encaminhadas para confecção das extensões sanguíneas, com o auxílio de pipetas e ponteiras de 10 $\mu\text{L}$ , lâminas com ponta fosca e o corante May-Grunwald-Giemsa modificado (conferir o POP do método na Apêndice I). Foram confeccionadas 2 lâminas por paciente, a fim de possibilitar a análise microscópica para identificação e caracterização dos diferentes componentes sanguíneos do paciente. Foram contadas 100 hemácias por campo (10 campos no total) para contagem de esquizócitos (ou outros tipos de poiquilocitoses que possam ser identificadas), onde foram considerados alterados quando a contagem de esquizócitos  $\geq 1$  por campo, de acordo com o preconizado por Noutsos e colaboradores (93) e pelo Conselho Internacional de Padronização em Hematologia (ISCH) (81). No hemograma de um paciente com diagnóstico de MAT apresentará uma anemia normocítica e trombocitopenia, enquanto na extensão sanguínea de sangue periférico são detectados esquizócitos, com presença de microesferócitos e hemácias policromáticas. Os esquizócitos podem apresentar-se com uma variedade de formas: retangulares, crescentes ou em forma de capacete, com aspecto de hemácias mordidas (Figura 7). A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico em objetiva de 100x com auxílio de óleo de imersão.



**Figura 7: Lâmina de paciente com diagnóstico de microangiopatia trombótica devido envenenamento botrópico.** Lâmina corada com May-Grunwald Giemsa modificado, em objetiva de 100x, sendo possível observar presença de esquizócitos (seta).

### 3.7 Avaliação dos parâmetros laboratoriais

Os exames laboratoriais foram realizados pela rotina de atendimento da FMT-HVD, no Laboratório de Análises Clínicas da referida instituição (Quadro 2).

**Quadro 2: Descrição dos exames laboratoriais.** Os exames foram realizados nos pacientes por um período de até sete dias a contar do momento de sua admissão

TIPO DE EXAME	PERIODICIDADE DA COLETA	LOCAL DE REALIZAÇÃO
Hemograma – série vermelha, série branca e plaquetas	Na admissão – 24h – 48h – 72h - 7 dias, após soroterapia	FMT-HVD
Creatinina		
Ureia		
Lactato Desidrogenase (LDH)		
Bilirrubina total e frações		
Tempo de Protrombina (TAP)		
Tempo de Coagulação (TCLW)		

#### 3.7.1 Hemograma

O hemograma de todos os pacientes admitidos foi realizado no analisador Cell-Dyn Ruby™ da *Abbott Hematology* (Figura 8) por citometria de fluxo a laser com tecnologia de Separação de Dispersão Polarizada de Ângulo Múltiplo (MAPSS).



**Figura 8: Analisador hematológico Cell-Dyn Ruby.** Equipamento utilizado no laboratório de Análises Clínicas da FMT-HVD para obtenção do hemograma dos pacientes da referida instituição. (Fonte: CEPCLAM)

### 3.7.2 Exames bioquímicos

Os exames bioquímicos foram realizados no CMD 600i da Wiener Lab® (Figura 9), possuindo três princípios de medição: fotometria, turbidimetria e potenciometria. Além de possuir um método para leitura de eletrólitos, por potenciometria direta.



**Figura 9: Analisador bioquímico CMD 600i.** Equipamento utilizado no laboratório de Análises Clínicas da FMT-HVD para o preparo dos exames bioquímicos dos pacientes da referida instituição. (Fonte: CEPCLAM)

### 3.7.3 Tempo de Atividade de Protrombina (TAP)

Quanto ao Tempo de Atividade de Protrombina, este foi realizado no HumanClot Junior da InVitro Diagnóstica. O equipamento possui um canal óptico para a determinação de parâmetros básicos da cascata de coagulação em plasma humano citratado. Para tal, o kit utilizado para as dosagens coagulométricas dos pacientes foi o Clot TP da BIOS Diagnóstica®.

O teste consiste na medida do tempo de coagulação do plasma após a adição de uma fonte de fator tissular (tromboplastina) e cálcio. Esse processo ativará o fator X, resultado na formação do coágulo de fibrina (100).

### **3.7.4 Tempo de Coagulação pelo método de Lee-White (TCLW)**

Para a mensuração do tempo de coagulação foi utilizado o método de Lee-White (TCLW), originalmente é um método aplicado para o monitoramento de pacientes com hemofilia, no entanto, vem sendo utilizado como uma ferramenta de diagnóstico de coagulopatia induzida por veneno de serpente, e para o monitoramento da eficácia da terapia antiveneno (6,101–103). Nesse contexto, o paciente deve ser avaliado quanto à presença de alterações no tempo de coagulação diante da presença ou ausência dos sinais e sintomas clínicos característicos de envenenamento, considerando a epidemiologia do caso e a descrição ou a identificação do agente causador (104).

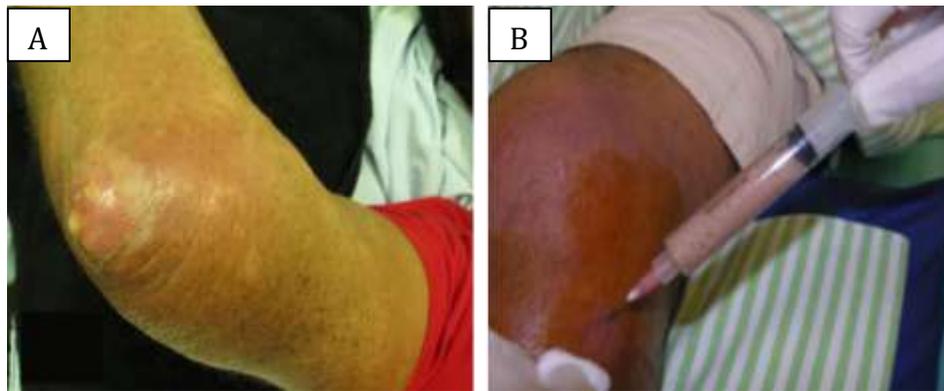
O TCLW não é um exame para fins confirmatórios de envenenamento, e sim, como forma de auxiliar na evolução da normalidade da hemostasia primária. No método de TCLW, após a inserção de 2mL de sangue em um tubo de hemólise, deve-se colocar o tubo em banho-maria, e a partir do quinto minuto, realizar leitura de minuto em minuto, até o tempo para formação do coágulo, este sendo dividido em três (3) tipos: normal (até 9 minutos); prolongado (de 10 a 30 minutos); e incoagulável (acima de 30 anos) (101,104).

### **3.8 Diagnóstico de Insuficiência Renal Aguda (IRA)**

O diagnóstico de IRA dos pacientes do estudo foi baseado no critério Acute Kidney Injury Network (AKIN) - 48 horas, proposto por uma rede clínica de especialistas (105). Todos os participantes tiveram pelo menos duas dosagens de creatinina sérica, a primeira na admissão hospitalar (antes do tratamento antiveneno) e a segunda pelo menos 48 horas após a admissão. Os pacientes que tiveram uma alteração primária na creatinina sérica de  $\geq 0,3$ mg/dL ou  $\geq 150$  a 199% em relação ao seu valor basal foram considerados com IRA (36). Os estágios de gravidade de IRA foram classificados de acordo com os critérios AKIN (106): Estágio 1: aumento de creatinina sérica acima de  $\geq 0,3$ mg/dL ou  $\geq 150$  a 199% em relação ao critério basal; Estágio 2: aumento de  $\geq 200$  a 299%; Estágio 3: aumento de  $\geq 4,0$ mg/dL ou 300%, ou necessidade de terapia renal substitutiva.

### 3.9 Diagnóstico de Infecção Secundária (IS)

A infecção secundária ao envenenamento botrópico foi definida de acordo com os critérios de Sachett (23), sendo caracterizada pela presença de sinais locais de dor intensa e persistente, vermelhidão localizada, presença de celulite e/ou abscesso (Figura 10) até 48 horas após a admissão, sendo iniciada antibioticoterapia (23,107). Para tanto, a celulite foi definida pela presença de sinais locais de inflamação associados à febre, leucocitose, linfagite e/ou linfadenite (108), e o abscesso caracterizado pela presença de lesão flutuante, apresentando secreção purulenta ou sero-purulenta (108,109), e deve ser realizada a drenagem da secreção presente. Para os sinais sistêmicos, devendo-se atentar para febre, náusea, vômito, rebaixamento do nível de consciência e sepse (104).



**Figura 10: Envenenamento botrópico com infecção secundária.** A – Formação de abscesso com drenagem de secreção purulenta em membro superior direito. Fonte: Sachett (110); B – Formação de abscesso e drenagem do abscesso com conteúdo sero-sanguinolento em membro inferior esquerdo com presença de vermelhidão no local. Fonte: CEPCLAM (104).

### 3.10 Análise estatística

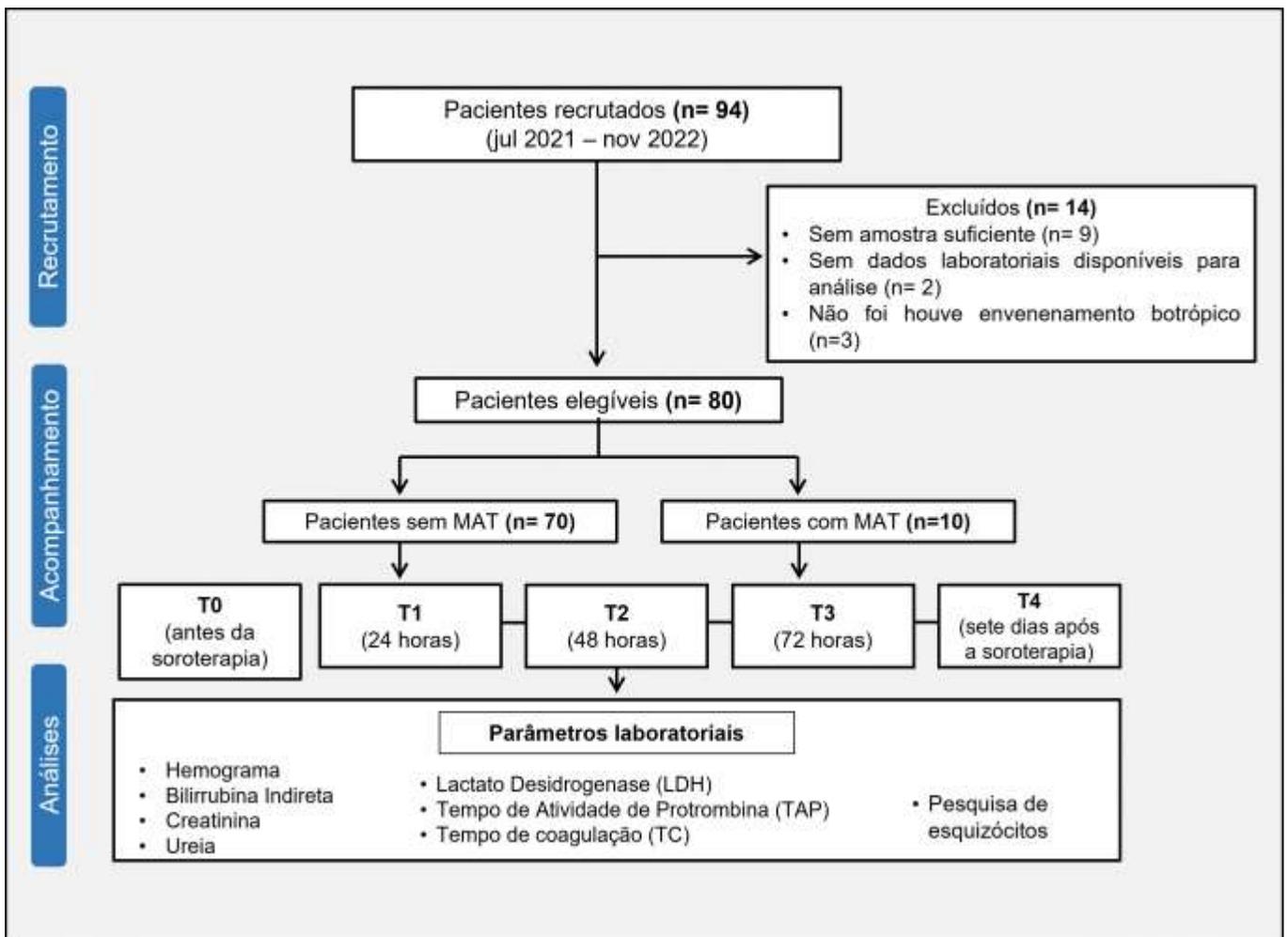
Os resultados obtidos foram tabulados em planilhas no *Microsoft Excel*® (Microsoft 365), para posterior análise estatística e criação de tabelas. A primeira análise estatística realizada foi através do teste de normalidade de Shapiro-Wilk e posterior obtenção da média e erro padrão para os dados parâmetros com intervalo de confiança de 95% (IC) e mediana ( $M_d$ ) e intervalo interquartil (IQ) para os dados não paramétricos de cada grupo com percentil de 75% através do software *GraphPad Prism v.9.0.2*, sendo também utilizado para elaboração dos gráficos. As comparações entre grupos com duas variáveis foram realizadas através do teste 2way ANOVA, seguido de pós-teste de Dunnet comparado a um controle para múltiplas comparações, com correção de Dunn-Šidák para neutralizar problema das

múltiplas comparações, também realizadas pelo software *GraphPad Prism v.9.0.2* sendo considerado significativo quando P-valor for  $<0,05$ . Para as variáveis sociodemográficas, a comparação foi feita pelo teste de Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ) e Teste Exato de Fisher com intervalo de confiança de 95% e P-valor significativo quando menor que 0,05 pelo software *Stata v.13.0*.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Caracterização dos pacientes

Entre os meses de julho de 2021 até o período de novembro de 2022 foram admitidos 94 pacientes vítimas de envenenamento botrópico na FMT-HVD, sendo inclusos 80 dentro dos critérios de elegibilidade do estudo (Figura 11). Desse total, 10 pacientes foram diagnosticados com MAT, representando uma frequência de 12,5% em pacientes vítimas de envenenamento botrópico atendidos, e 70 pacientes sem diagnóstico de MAT.



**Figura 11:** Fluxograma da inclusão dos pacientes.

## 4.2 Características clínico-epidemiológicas dos pacientes

As principais características clínicas e epidemiológicas da população do estudo foram descritas na Tabela 2. Nos grupos com e sem MAT, houve predominância de envenenamento botrópico em pacientes do sexo masculino, sendo 100% em pacientes com MAT, com média de idade de 51 anos ( $\pm 17,2$  desvio padrão). Os dados mostram ainda que a população de faixa etária acima de 60 anos apresentam uma maior tendência no desenvolvimento de MAT (40% grupo com MAT contra 14,2% grupo sem MAT), Observou-se uma predominância de casos ocorridos em zonas rurais, além do tempo para assistência médica acima de 6h, mostraram-se fatores que podem estar associados a uma maior propensão ao desenvolvimento de MAT. Não foram observadas diferenças relevantes entre os grupos de pacientes com e sem MAT em termos da classificação da gravidade do envenenamento, região anatômica da mordida, histórico de envenenamento ofídico anterior e uso de medicamentos (Tabela 2).

**Tabela 2:** Associação de variáveis epidemiológicas e microangiopatia trombótica nos pacientes

VARIÁVEIS	TOTAL N 80 (%)	SEM MAT N 70 (%)	COM MAT N 10 (%)	OR (95% IC)	P-valor
<b>Sexo</b>					
Feminino	8 (10)	8 (11,4)	0 (0)	...	0,65
Masculino	72 (90)	62 (88,6)	10 (100)		
<b>Idade (anos)</b>					
13-40	38 (47,5)	36 (51,43)	2 (20)		
41-60	28 (35)	24 (34,39)	4 (40)	0,33 (0,05-1,97)	0,40
>60	14 (17,5)	10 (14,29)	4 (40)	0,14 (0,02-0,87)	0,08
<b>Área de ocorrência</b>					
Urbana	36 (45)	34 (48,57)	2 (20)	0,26 (0,05-1,34)	0,17
Rural	44 (55)	36 (51,43)	8 (80)		
<b>Região anatômica da mordida</b>					
Membro superior	10 (12,5)	9 (12,86)	1 (10)	0,75 (0,09-6,67)	>0,99
Membro inferior	70 (87,5)	61 (87,14)	9 (90)		
<b>Gravidade do envenenamento</b>					
Leve	19 (23,75)	18 (25,71)	1 (10)		
Moderado	40 (50)	34 (48,57)	6 (60)	0,31 (0,4-2,82)	0,54
Grave	21 (26,25)	18 (25,71)	3 (30)	0,33 (0,03-3,51)	0,68
<b>Tempo desde o envenenamento até assistência médica (em horas)</b>					
0-3	50 (62,5)	46 (65,71)	4 (40)		
4-6	14 (17,5)	12 (17,14)	2 (20)	0,52 (0,09-3,20)	0,78
>6	16 (20)	12 (17,14)	4 (40)	0,26 (0,06-1,20)	0,18
<b>Histórico anterior de picada de serpente</b>					
Sim	18 (22,5)	15 (21,43)	3 (30)	1,57 (0,36-6,82)	0,80
Não	62 (77,5)	55 (78,57)	7 (70)		
<b>Uso de medicamentos orais</b>					
Sim	27 (33,75)	22 (31,43)	5 (50)	2,18 (0,57-8,32)	0,42
Não	53 (66,25)	48 (68,57)	5 (50)		
<b>Uso de medicamentos tópicos</b>					

Sim	27 (33,75)	25 (35,71)	2 (20)	0,45 (0,09-2,29)	0,55
Não	53 (66,25)	45 (64,29)	8 (80)		
<b>Uso de torniquete</b>					
Sim	23 (28,75)	22 (31,43)	1 (10)	0,24 (0,03-2,03)	0,30
Não	57 (71,25)	48 (68,57)	9 (90)		

As principais manifestações locais observadas nos pacientes que desenvolveram MAT no momento da admissão foram dor e edema (relatado em 100% dos casos). Outras condições clínicas observadas no momento da admissão foram, presença de equimose no local da picada (30% em pacientes com MAT e 12,86% em pacientes sem MAT), havendo 2,91 de chances dessa condição ocorrer em pacientes com risco de desenvolver MAT (OR: 2,91; IC95%: 0,63-13,32), além da presença de bolhas no local da picada, sendo reportada em 30% dos pacientes que desenvolveram MAT (sem MAT: 14,28%), também apresentando uma associação de 2,57 de chances dessa condição ocorrer em pacientes com risco de desenvolver MAT (OR: 2,57; IC95%: 0,57-11,63), o que pode levar a implicações clínicas importantes na avaliação e manejo dos pacientes que apresentarem essas condições (Tabela 3).

Não houve associação significativa entre o desenvolvimento de MAT e outras manifestações locais ou comorbidades, apesar da hipertensão arterial ter sido observada em maior proporção de pacientes com MAT, em comparação aos pacientes sem MAT (20% *versus* 10%), embora essa diferença não tenha atingido significância estatística, como indicado pelo intervalo de confiança do *odds ratio* (OR), que inclui o valor 1 (OR: 2,25; IC95%: 0,40-12,76), sugerindo uma associação entre a presença de MAT e um aumento moderado no risco de hipertensão, porém, devido seu amplo intervalo de confiança e incluir o valor de 1, não podemos afirmar com certeza se essa associação é estatisticamente significativa (Tabela 3).

Quando avaliada as manifestações sistêmicas relacionadas a homeostasia, observa-se que 70% dos pacientes com MAT apresentaram sangue incoagulável no momento da admissão (sem MAT: 58%), não apresentando diferenças significativas entre os grupos, assim como a presença de trombocitopenia (plaquetas:  $<150.000/\text{mm}^3$ ) também não apresentou diferenças significativas entre os grupos (sem MAT: 5,21% *versus* com MAT: 20%). No entanto, os pacientes vítimas de envenenamento botrópico que desenvolveram MAT apresentam 4,12 mais chances de apresentarem trombocitopenia ainda no momento da admissão (OR: 4,12; IC95%: 0,65-26,21) (Tabela 3). Em relação aos índices hematológicos

(hemácias, hemoglobina e hematócrito), estes também não apresentaram significância estatística quando comparado entre os grupos sem e com MAT no momento da admissão (Figura 14).

Um importante fator para o desenvolvimento de MAT associado a condição clínica dos pacientes foi o sangramento no local da picada no momento da admissão, essa condição apresentando significância clínica associada ( $P=0,003$ ), além de haver 11,56 mais chances dos pacientes que apresentem sangramento no local da picada ainda na admissão de desenvolverem MAT (OR: 11,56, IC95%: 2,24-59,54) (Tabela 3). É importante considerar esses fatores durante o atendimento e monitoramento dos pacientes, pois sua identificação precoce pode auxiliar na prevenção e no manejo adequado da MAT, reduzindo as complicações associadas a essa condição.

Além destes, também foi observado que todos os pacientes que desenvolveram MAT desenvolveram infecção bacteriana secundária (IS) (pacientes sem MAT: 57,14%), havendo significância estatística para essa associação ( $P=0,012$ ). Essa condição pode indicar que a presença da infecção secundária no local da picada ou em outras áreas do corpo, podem desempenhar um papel no desencadeamento da MAT. A IS pode agravar a resposta inflamatória e contribuir para a formação de microtrombos na circulação, agravando ainda mais a condição do paciente (Tabela 3).

Ainda, observou-se o desenvolvimento de insuficiência renal aguda (IRA), em 40% dos pacientes que desenvolveram MAT (pacientes sem MAT: 7,14%), o que pode refletir no tempo de hospitalização prolongado no perfil desses pacientes, também sendo um importante fator para o desenvolvimento de MAT em pacientes vítimas de envenenamento botrópico, com significância estatística (OR: 8,67; IC95%: 1,83-41,17;  $P=0,024$ ). Dos pacientes que desenvolveram MAT, 10% foram classificados como IRA em estágio leve, 20% classificados como moderados e 10% foi classificado como grave. Dos pacientes que não desenvolveram MAT, a IRA foi reportada em 7,14% dos casos, sendo 5,71% foram classificados como leve e 1,43% classificado como moderado (Tabela 3).

Apesar de não haver significância estatística, o sangramento sistêmico foi observado em 20% dos pacientes com MAT ao longo do seguimento (sem MAT: 8,6%), sendo a equimose a distância o sangramento sistêmico mais reportado entre os pacientes com MAT (30%), seguido de hematúria (macroscópica) (20%) (Tabela 3). Os pacientes com MAT apresentam 17,25 mais chances de apresentar hematúria em relação aos pacientes sem MAT, sugerindo que a presença de MAT pode desempenhar

um papel no desenvolvimento ou agravamento da hematúria. Esse achado pode ser associado a formação de microtrombos na circulação, podendo afetar a integridade dos vasos sanguíneos nos rins, e levar ao extravasamento de sangue e à presença de sangue na urina. Além disso, a MAT também pode causar danos às hemácias, resultando em sua ruptura e contribuindo para a presença de sangue na urina.

O tempo de hospitalização (em dias), foi significativamente maior para os pacientes que evoluíram para MAT (com MAT:  $11,0 \pm 3,6$  *versus* sem MAT:  $6,3 \pm 4,5$ ;  $P < 0,001$ ), demonstrando haver um prolongamento no tempo de internação nesse grupo de pacientes. Não houve registro de óbitos nos pacientes deste estudo.

**Tabela 3:** Características clínicas no momento da admissão e danos secundários decorrentes do envenenamento botrópico

Variáveis	TOTAL N 80 (%)	SEM MAT N 70 (%)	COM MAT N 10 (%)	OR (IC 95%)	P-valor
<b>MANIFESTAÇÕES LOCAIS</b>					
<b>Dor</b>					
Sim	80 (100)	70 (100)	10 (100)	1	1
Não	0 (0)	0 (0)	0 (0)		
<b>Edema</b>					
Sim	79 (98,7)	69 (98,7)	10 (100)	...	>0,99
Não	1 (1,3)	1 (1,3)	0 (0)		
<b>Sangramento no local da picada</b>					
Sim	26 (32,5)	18 (25,71)	8 (80)	<b>11,56 (2,24-59,54)</b>	<b>0,003*</b>
Não	54 (67,5)	52 (74,29)	2 (20)		
<b>Equimose</b>					
Sim	12 (15)	9 (12,86)	3 (30)	<b>2,91 (0,63-13,32)</b>	0,34
Não	68 (85)	61 (87,14)	7 (70)		
<b>Bolhas</b>					
Sim	13 (16,25)	10 (14,28)	3 (30)	<b>2,57 (0,57-11,63)</b>	0,41
Não	67 (83,75)	60 (85,72)	7 (70)		
<b>Linfadenopatia regional</b>					
Sim	22 (27,5)	19 (27,14)	3 (30)	1,15 (0,27-4,91)	>0,99
Não	58 (72,5)	51 (72,86)	7 (70)		
<b>ALTERAÇÕES SISTÊMICAS RELACIONADAS A HEMOSTASIA</b>					
<b>Sangue incoagulável (Tempo de coagulação)</b>					
Sim	48 (60)	41 (58,57)	7 (70)	1,65 (0,39-6,92)	0,74
Não	52 (40)	29 (41,25)	3 (30)		
<b>Trombocitopenia (contagem plaquetas &lt;150,000/mm<sup>3</sup>)</b>					
Sim	6 (7,5)	4 (5,71)	2 (20)	<b>4,12 (0,65-26,21)</b>	0,32
Não	74 (92,5)	66 (94,29)	8 (80)		
<b>Sangramento sistêmico</b>					
Sim	9 (11,25)	6 (8,6)	2 (20)	<b>2,67 (0,46-15,51)</b>	0,52
Não	71 (88,75)	64 (91,4)	8 (80)		
<b>Gengivorragia</b>					
Sim	6 (7,50)	6 (8,6)	0 (0)	...	0,87
Não	74 (92,5)	64 (91,4)	10 (100)		
<b>Hematúria (macroscópica)</b>					
Sim	3 (3,8)	1 (1,5)	2 (20)	<b>17,25 (1,40-212,10)</b>	0,08
Não	77 (96,2)	69 (98,5)	8 (80)		
<b>Hematêmese</b>					
Sim	1 (1,3)	1 (1,5)	0 (0)	...	>0,99
Não	79 (98,7)	69 (98,5)	10 (100)		
<b>Equimose</b>					
Sim	12 (15)	9 (12,9)	3 (30)	<b>2,91 (0,63-13,32)</b>	0,34
Não	68 (85)	61 (87,1)	7 (70)		
<b>OUTRAS MANIFESTAÇÕES SISTÊMICAS</b>					
<b>Oligúria/Anúria</b>					
Sim	1 (1,25)	0 (0)	2 (20)	...	<b>0,03*</b>
Não	79 (98,75)	70 (100)	8 (80)		
<b>Comorbidades</b>					
Sim	13 (16,25)	11 (15,71)	2 (20)	1,34 (0,25-7,18)	>0,99

Não	67 (83,75)	59 (84,29)	8 (80)		
<b>TIPOS DE COMORBIDADES</b>					
<b>Hipertensão</b>					
Sim	9 (11,25)	7 (10)	2 (20)	<b>2,25 (0,40-12,76)</b>	0,63
Não	71(88,75)	63 (90)	8 (80)		
<b>Diabetes mellitus</b>					
Sim	3 (3,75)	3 (4,29)	0 (0)	...	>0,99
Não	77 (96,25)	67 (95,71)	10 (100)		
<b>COMPLICAÇÕES DO ENVENENAMENTO</b>					
<b>Infecção secundária</b>					
Sim	50 (62,5)	40 (57,14)	10 (100)	...	<b>0,012*</b>
Não	30 (37,5)	30 (42,86)	0 (0)		
<b>Insuficiência Renal Aguda</b>					
Sim	9 (11,25)	5 (7,14)	4 (40)	<b>8,67 (1,83-41,17)</b>	<b>0,024*</b>
Não	71 (88,75)	65 (92,86)	6 (60)		

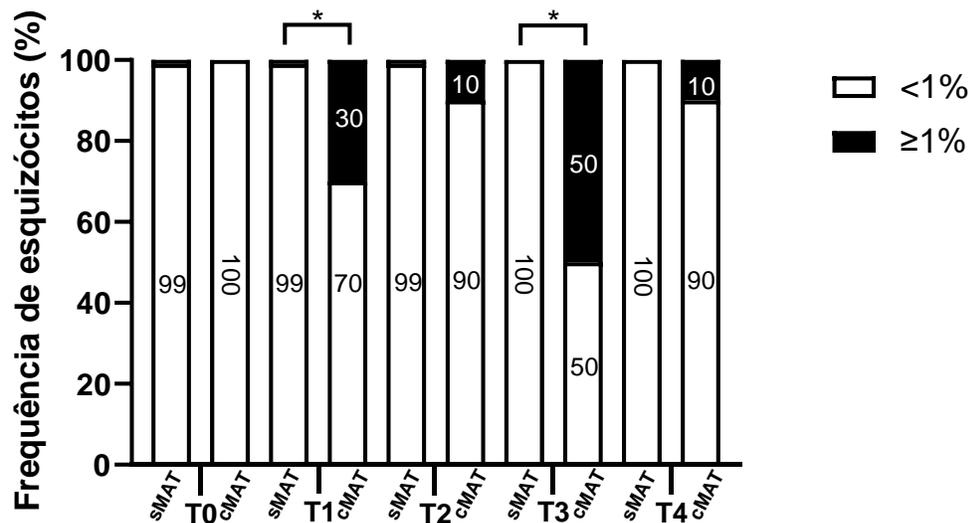
### 4.3 Parâmetros do diagnóstico de MAT, quantificação e frequência dos esquizócitos

Os parâmetros utilizados nesse estudo para detecção da MAT foram avaliados desde o momento da admissão até o sétimo dia de internação, sendo que a diminuição desses parâmetros pode ocorrer simultaneamente ou de forma separada durante os dias de hospitalização avaliados, desde que esses valores tenham permanecido alterados em pelo menos dois tempos de avaliação. Em relação a confirmação do diagnóstico, baseou-se no momento em que os pacientes apresentaram os três critérios do estudo, sendo 50% destas confirmações no T2 (48h após a admissão), 20% nos tempos T1 (24h após a admissão) e 20% em T3 (72h após a admissão), onde pode-se observar a instalação de MAT nesses pacientes de forma mais tardia.

Dessa forma, foi possível observar que a presença dos esquizócitos nos pacientes que desenvolveram MAT encontravam-se aumentados desde a admissão em 60% dos casos, indicando que a pesquisa de esquizócitos é um importante marcador de MAT em pacientes vítimas de envenenamento botrópico. Quando avaliado os demais tempos, é possível observar que a trombocitopenia nos pacientes com MAT teve instalação de forma mais tardia, com números mais expressivos 48h após a admissão hospitalar (Figura 12).

Em relação a quantificação dos esquizócitos, utilizou-se o método do Conselho Internacional de Padronização em Hematologia (ICSH) (81), como reportado. Sendo considerados significativo quando contados  $\geq 1\%$  esquizócito por lâmina (1.000 hemácias contadas ao todo). Na Figura 13, foi expresso a quantificação e a frequência dos esquizócitos entre os pacientes que desenvolveram MAT (cMAT) e os

que não desenvolveram (sMAT). Nesse contexto, é possível observar que mesmo os pacientes sMAT apresentaram uma porcentagem pequena da frequência e quantificação de esquizócitos durante a hospitalização. Além disso, as análises microscópicas realizadas nos tempos de 24 e 72 horas após o envenenamento botrópico nos pacientes cMAT mostraram-se com significância estatística ( $P$ -valor em 24h=0,005;  $P$ -valor em 72h=<0,000), indicando que a diferença na frequência de esquizócitos entre o grupo de pacientes com e sem MAT é estatisticamente significativo.



**Figura 12: Perfil da frequência e quantificação dos esquizócitos entre os pacientes sem MAT (sMAT) e com MAT (cMAT) durante o acompanhamento.** A quantificação foi realizada baseado nos critérios da ICSH para a quantificação de esquizócitos, sendo significativo quando a contagem em 1.000 hemácias (10 campos no total), for igual ou maior a 1% de esquizócitos contados. Em relação a frequência, está foi observada entre todos os tempos (T0, T1, T2, T3 e T4) de acompanhamento dos pacientes sem e com MAT. A porcentagem do grupo sMAT que não foi expressa na figura, trata-se da quantificação de 1,43% de esquizócitos contados (nos tempos T0, T1 e T2). Os valores de  $p$  foram obtidos através do Teste Exato de Fisher devido ao tamanho amostral, sendo considerados estatisticamente significativo quando  $*P < 0,005$ .

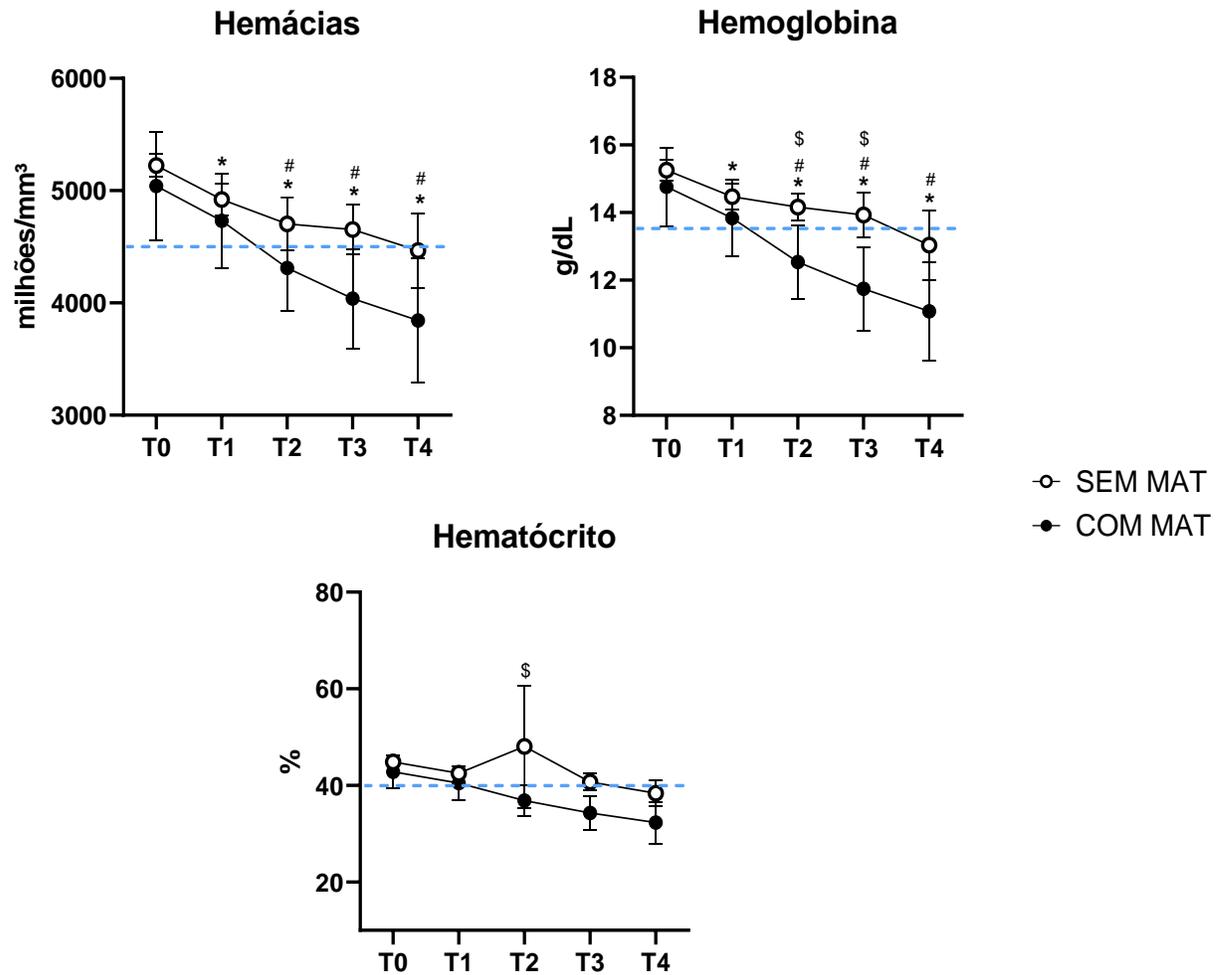
#### 4.4 Caracterização do perfil laboratorial dos pacientes durante a terapia antiveneno

Em relação a caracterização do perfil laboratorial dos pacientes durante o período de acompanhamento do estudo, pode-se observar que ambos os grupos de pacientes com MAT e sem MAT, apresentam um perfil de diminuição dos valores da série vermelha (hemácias, hemoglobina e hematócrito) ao longo do tempo, quando comparados com o T0 (momento da admissão). Os dados para esse grupo apresentam-se dentro da normalidade ( $\alpha=0.05$ ), então, quando avaliada os valores de média

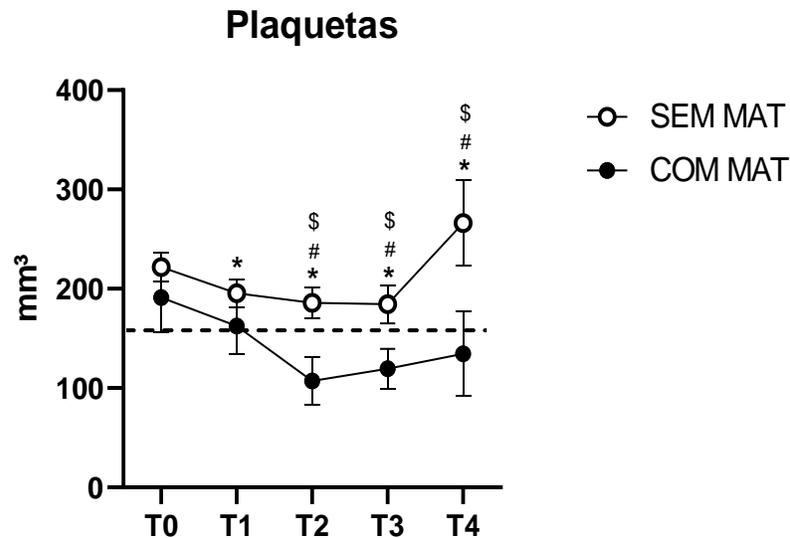
e erro padrão com IC de 95%, nota-se que os pacientes com MAT encontram-se sempre abaixo do valor de referência, quando comparado com os pacientes sem MAT em todos os tempos (Figura 13).

Quando realizado o teste 2way ANOVA comparando T0 com os demais tempos (T1, T2, T3 e T4), pode-se observar significância estatística em T2 (T0 vs T2) ( $P=0,00$ ), T3 e T4 (T0 vs T3 e T4) ( $P=<0,00$ ) quando avaliado as hemácias em pacientes com MAT, mostrando que há uma associação positiva entre a presença de microangiopatia trombótica e com a queda dos valores médios das hemácias. Em hemoglobina (Hb), também pode-se observar significância estatística em T2, T3 e T4 (T0 vs T2, T3 e T4) ( $P=<0,00$ ) em pacientes com MAT, também mostrando que há associação entre a queda dos valores médios de hemoglobina e o desenvolvimento da MAT entre os pacientes. Em hematócrito (Ht) não foi observada significância estatística, no entanto, quando realizado análise entre os grupos (sem e com MAT), foi observada significância estatística em T2 ( $P=0,02$ ) quando avaliado hematócrito, e em hemoglobina foi observada significância estatística em T2 ( $P=0,02$ ) e T3 ( $P=0,01$ ) (Figura 13).

Em relação ao perfil plaquetário dos pacientes incluídos no estudo, os dados para esse grupo apresentam-se dentro da normalidade ( $\alpha=0,05$ ), então, quando avaliado os valores de média e erro padrão com IC95%, é possível observar que os pacientes com MAT apresentaram valores diminuídos desde o T0, quando comparados aos pacientes sem MAT, com valores abaixo do valor de referência (VR: 150.000/mm<sup>3</sup>) (Figura 14), caracterizando a trombocitopenia nesses pacientes. Quando realizado o teste 2way ANOVA comparando a T0 com os demais tempos (T1, T2, T3 e T4), pode-se observar associação estatística significativa em T2, T3 e T4 ( $P<0,001$ ). Quando avaliado a correlação entre grupos com e sem MAT, obteve-se também uma correlação estatística significativa em T2 ( $P=0,00$ ), T3 ( $P= 0,03$ ) e T4 ( $P=<0,00$ ), mostrando que há de fato uma forte associação entre a presença de trombocitopenia e o desenvolvimento de plaquetopenia entre os pacientes (Figura 14).

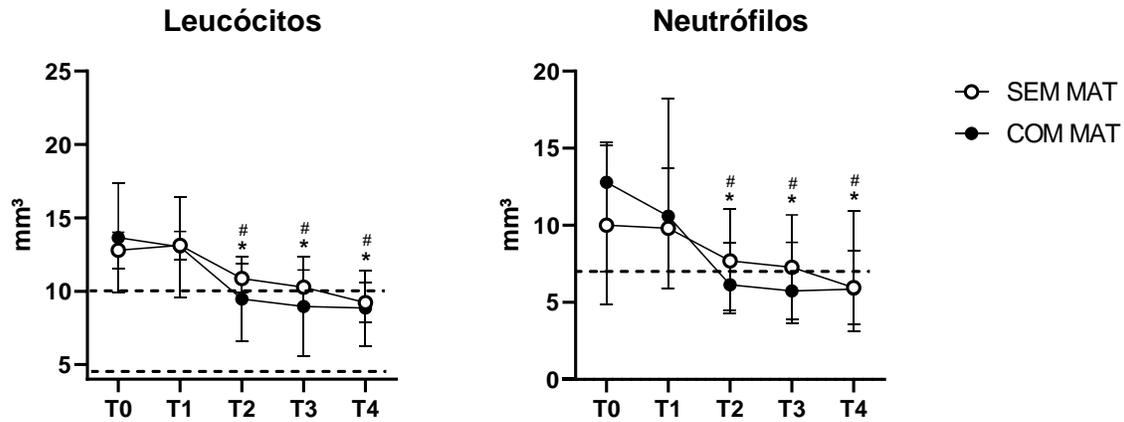


**Figura 13: Avaliação da série vermelha em pacientes com e sem MAT ao longo do tempo.** Valores de média  $\pm$  erro padrão do perfil da série vermelha entre pacientes sem (círculo branco) e com (círculo preto) MAT. Estatística realizada pelo método de Two-Way ANOVA seguido do pós-teste de Dunnet, onde # $p < 0,05$  quando comparados os valores entre os tempos T1, T2, T3 ou T4 com tempo T0 dos pacientes com MAT e \* $p < 0,05$  quando comparados os valores entre os tempos T1, T2, T3 ou T4 com tempo T0 dos pacientes sem MAT, Quando avaliado os valores entre os grupos sem (círculo branco) e com (círculo preto) pelo método de Two-Way ANOVA seguido de teste de Dunn-Šidák's, onde \$ $p < 0,05$  quando comparado os valores entre os grupos sem (círculo branco) e com (círculo preto), Em relação ao tracejado é relatado o valor de referência para **Hemácias**: 4,5 milhões/mm<sup>3</sup>; **Hb**: 13,5g/dL e **Ht**: 40%,



**Figura 14: Avaliação do perfil plaquetário em pacientes com e sem MAT ao longo do tempo.** Valores de média  $\pm$  erro padrão do perfil plaquetário entre pacientes sem (círculo branco) e com (círculo preto) MAT. Estatística realizada pelo método de Two-Way ANOVA seguido do pós-teste de Dunnet, onde # $p < 0,05$  quando comparados os valores entre os tempos T1, T2, T3 ou T4 com tempo T0 dos pacientes com MAT e \* $p < 0,05$  quando comparados os valores entre os tempos T1, T2, T3 ou T4 com tempo T0 dos pacientes sem MAT. Quando avaliado os valores entre os grupos sem (círculo branco) e com (círculo preto) pelo método de Two-Way ANOVA seguido de teste de Dunn-Šidák's, onde \$ $p < 0,05$  quando comparado os valores entre os grupos sem (círculo branco) e com (círculo preto). Em relação ao tracejado é relatado o valor de referência de 150.000/mm<sup>3</sup>.

Em relação ao perfil leucocitário dos pacientes, os dados para esse grupo apresentam-se dentro da normalidade ( $\alpha=0,05$ ), então, quando avaliado os valores de média e erro padrão com IC95%, observa-se que desde o momento da admissão (T0) os valores de leucócitos totais e neutrófilos encontravam-se aumentados em ambos os grupos (sem e com MAT), ou seja, apresentam-se acima dos valores de referência. Quando realizado o teste 2way ANOVA comparando os valores de leucócitos totais e neutrófilos em T0 com os demais tempos (T1, T2, T3 e T4), pode-se observar associação estatística significativa em T2, T3 e T4 ( $P=0,00$ ), indicando uma resposta inflamatória mais intensa em pacientes com MAT após envenenamento botrópico. Esse resultado sugere que os pacientes com MAT apresentam uma resposta inflamatória prolongada e mais intensa, podendo estar relacionado com o desenvolvimento dessa complicação. Não foi observada significância estatística quando comparado entre os grupos com e sem MAT (Figura 15).

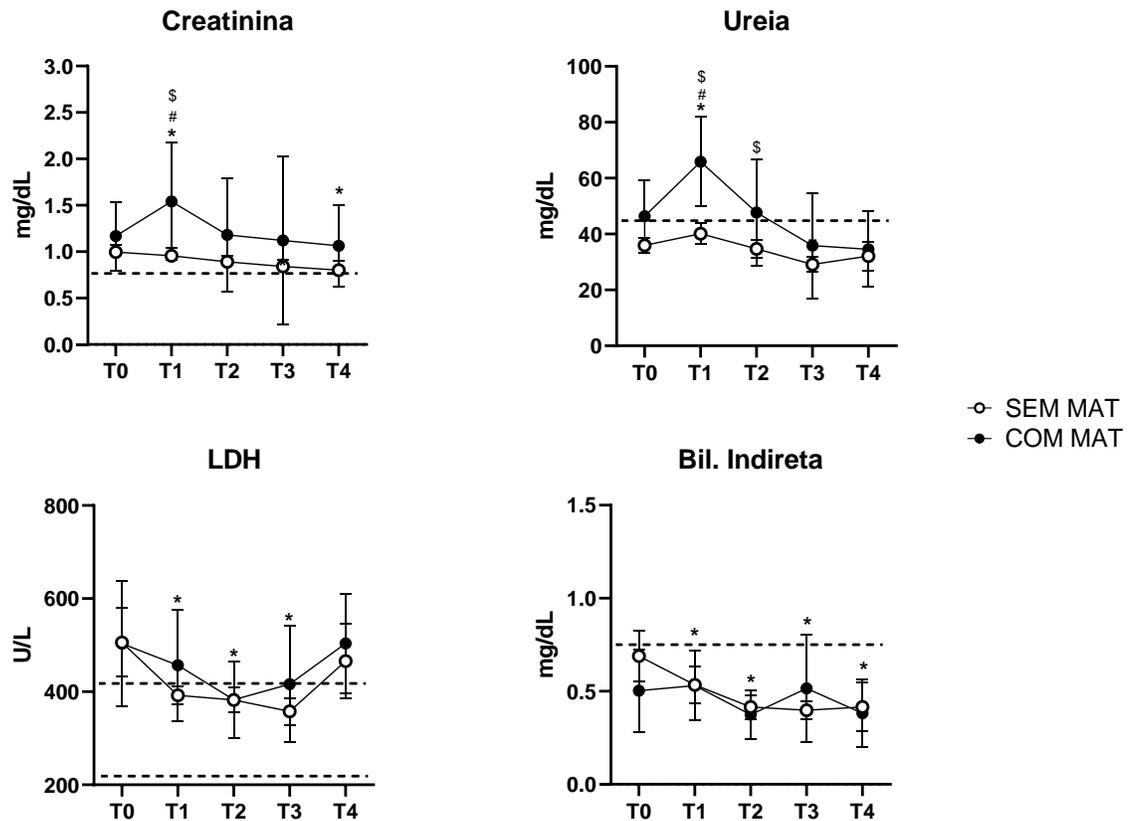


**Figura 15: Avaliação de leucócitos e neutrófilos em pacientes com e sem MAT ao longo do tempo.** Valores de média  $\pm$  erro padrão de Leucócitos e Neutrófilos entre pacientes sem (círculo branco) e com (círculo preto) MAT. Estatística realizada pelo método de Two-Way ANOVA seguido do pós-teste de Dunnet, onde <sup>#</sup> $p < 0,05$  quando comparados os valores entre os tempos T1, T2, T3 ou T4 com tempo T0 dos pacientes com MAT e <sup>\*</sup> $p < 0,05$  quando comparados os valores entre os tempos T1, T2, T3 ou T4 com tempo T0 dos pacientes sem MAT. Em relação ao tracejado é relatado o valor de referência : **Leucócitos** - 4.000 – 10.000mm<sup>3</sup>; **Neutrófilo** - 1.600 – 7.000mm<sup>3</sup>.

Observa-se também, que a relação entre os valores de plaquetas (Figura 14) e a leucocitose (Figura 15) podem ser indicativos para um quadro de tromboinflamação. A interação entre plaquetas e os leucócitos, principalmente os neutrófilos, pode contribuir para o desenvolvimento da tromboinflamação, uma vez que as plaquetas ativadas liberam moléculas pro-inflamatórias que recrutam leucócitos. Dessa forma, a leucocitose juntamente com a plaquetopenia, podem ser considerada um marcador de tromboinflamação em pacientes com MAT. Recentemente, um artigo de revisão escrito por Teixeira e colaboradores (111) descreveram possíveis mecanismos para o desenvolvimento de tromboinflamação em envenenamentos por serpentes peçonhentas. Apesar da falta de dados confirmatórios desse evento em modelos animais e estudos clínicos por envenenamentos ofídicos, os dados acima indicam que o processo inflamatório e o consumo plaquetário podem apresentar uma associação no desenvolvimento da MAT nos envenenamentos botrópicos já no início do envenenamento (Figura 14 e 15). Porém, mais dados (marcadores) ainda são necessários para melhor caracterizar o processo inflamatório e confirmar essa associação.

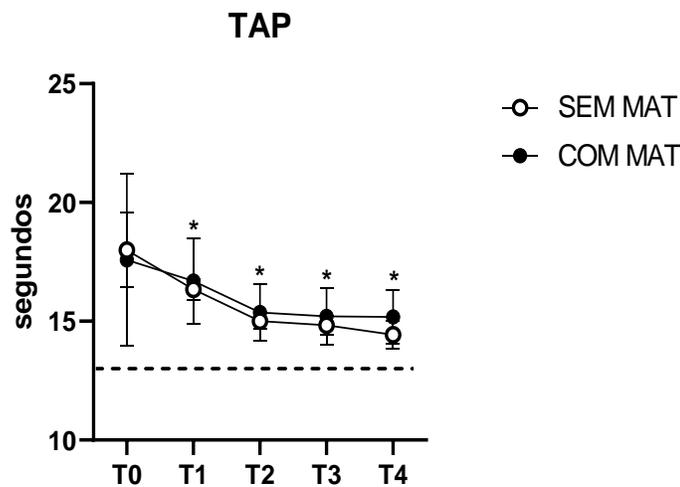
Quando avaliado os marcadores bioquímicos: ureia, creatinina, lactato desidrogenase (LDH) e bilirrubina indireta, os dados para esse grupo apresentam-se dentro da normalidade ( $\alpha=0,05$ ), então, quando avaliado os valores de média e erro padrão (IC95%), observa-se que há uma elevação nos valores desses pacientes quando comparados com os valores referência (tracejados) principalmente em T1 (Figura 16) para creatinina, ureia e LDH. Quando realizado o teste 2way ANOVA comparando os valores dos marcadores bioquímicos em T0 com os demais tempos (T1, T2, T3 e T4), observou-se

significância quando comparado T0 vs T1 em ureia ( $P=<0,00$ ) e creatinina ( $P=0,00$ ) no grupo com MAT. Quando realizado teste 2way ANOVA para comparação entre os grupos sem e com MAT, foi possível observar significância estatística em T1 ( $P=<0,00$ ) e T2 ( $P=0,03$ ) de ureia e em T1 ( $P= 0,00$ ) de creatinina, e estes marcadores bioquímicos são capazes de refletir a função renal dos pacientes após o envenenamento, portanto, a elevação dos níveis de ureia e creatinina ainda no momento da admissão, sugere um comprometimento renal dos pacientes vítimas de envenenamento botrópico que desenvolveram MAT. Em relação a LDH e bilirrubina indireta não foram observadas associações estatísticas significativas, mas é possível observar que os valores da LDH no grupo com MAT encontram-se levemente mais aumentados, principalmente em T2 e T4, quando comparado ao grupo sem MAT (Figura 16).



**Figura 16: Avaliação dos parâmetros bioquímicos em pacientes com e sem MAT ao longo do tempo.** Valores de média  $\pm$  erro padrão do perfil bioquímico entre pacientes sem (círculo branco) e com (círculo preto) MAT. Estatística realizada pelo método de Two-Way ANOVA seguido do pós-teste de Dunnett, onde # $p<0,05$  quando comparados os valores entre os tempos T1, T2, T3 ou T4 com tempo T0 dos pacientes com MAT e \* $p<0,05$  quando comparados os valores entre os tempos T1, T2, T3 ou T4 com tempo T0 dos pacientes sem MAT. Quando avaliado os valores entre os grupos sem (círculo branco) e com (círculo preto) pelo método de Two-Way ANOVA seguido de teste de Dunn-Šídák's, onde \$ $p<0,05$  quando comparado os valores entre os grupos sem (círculo branco) e com (círculo preto). Em relação ao tracejado é relatado o valor de referência de Cr: 0,5 – 1,2mg/dL; Ureia: 10-45mg/dL; LDH: 211-423U/L e Bilirrubina Indireta: 0,5 – 1,2mg/dL; 0,01 – 0,7mg/dL.

Em relação ao tempo de atividade de protrombina (TAP), os dados para esse grupo apresentam-se dentro da normalidade ( $\alpha=0,05$ ), então, quando avaliado os valores de média e erro padrão (IC:95%) não foi observada associação estatística significativa consideráveis quando comparado o teste 2way ANOVA, em todos os tempos (T0, T1, T2, T3 e T4) e em ambos os grupos (com e sem MAT). Os valores de média encontram-se acima do valor de referência em todos os tempos (Figura 17). Estudos prévios evidenciaram que as alterações de coagulação de pacientes vítimas de ofidismo que apresentaram MAT eram evidenciados por hipofibrinogenemia e consumo de fatores de coagulação marcado por INR e TTPa prolongados, tipicamente de coagulopatia de consumo induzida por veneno (do inglês *venom induced consumption coagulopathy*) (VICC) (91). Esses dados de fato mostram que as alterações hemostáticas induzidas pelo veneno são responsáveis pelo desencadeamento da coagulopatia trombótica. Porém, dosagens de fibrinogênio, D-dímero e outros fatores de coagulação ainda são necessários para melhor caracterizar a coagulopatia nos pacientes do presente estudo.



**Figura 17:** Avaliação de TAP em pacientes com e sem MAT ao longo do tempo. Valores de média  $\pm$  erro padrão de TAP entre pacientes sem (círculo branco) e com (círculo preto) MAT. Estatística realizada pelo método de Two-Way ANOVA seguido do pós-teste de Dunnett, onde  $\#p < 0,05$  quando comparados os valores entre os tempos T1, T2, T3 ou T4 com tempo T0 dos pacientes com MAT e  $*p < 0,05$  quando comparados os valores entre os tempos T1, T2, T3 ou T4 com tempo T0 dos pacientes sem MAT. Quando avaliado os valores entre os grupos sem (círculo branco) e com (círculo preto) pelo método de Two-Way ANOVA seguido de teste de Dunn-Šidák's, onde  $p < 0,05$  quando comparado os valores entre os grupos sem (círculo branco) e com (círculo preto). Em relação ao tracejado é relatado o valor de referência: 13,0 segundos para 100% de atividade.

## 5. DISCUSSÃO

A microangiopatia trombótica (MAT) é tida como uma condição quando associada ao envenenamento ofídico, com casos predominantes relatados em víboras da Índia, Sri Lanka, seguido de alguns elapídeos na Austrália, com uma frequência menor em outros países (91). E quando busca-se estudos que evidenciem a MAT em pacientes vítimas de envenenamento ofídico no Brasil, os dados obtidos são ainda mais escassos, tornando esse evento ainda pouco conhecido dentre os envenenamentos no Brasil.

Em relação a frequência de MAT, até o momento nenhum estudo clínico observacional foi descrito em relação aos envenenamentos botrópicos no Brasil ou em países da América onde o gênero habita, com isso, nosso estudo obteve uma frequência de 12,5% (10/80) em pacientes vítimas de envenenamento botrópico na Amazônia, uma vez que na literatura encontram-se apenas relatos e séries de casos (95–99). Em relação aos envenenamentos mundiais, Noutsos e colaboradores evidenciaram uma frequência de 9% (104/1158) de MAT em pacientes vítimas de envenenamento envolvendo serpentes da família Elapidae na Austrália, a principal espécie envolvida a cobra marrom australiana (*Pseudonaja* spp.) em 58% dos casos (93). Wijewickrama e colaboradores evidenciaram uma frequência de aproximadamente 3% (3/103) em envenenamento ofídico envolvendo *Hypnale* spp. no Sri Lanka (112). Em estudo de Rao e colaboradores, mostraram uma frequência de 18,5% (19/103) de MAT em pacientes vítimas de envenenamento ofídico na Índia (94), E em resultados obtidos por Isbister e colaboradores (92), mostraram uma frequência de MAT em 12,5% (4/32) dos envenenamentos ofídicos por *Pseudonaja* spp. na Austrália.

Em relação aos achados epidemiológicos do nosso estudo, foi observado que todos os pacientes vítimas de envenenamento botrópico que desenvolveram MAT eram do sexo masculino em idade produtiva (média de 51 anos $\pm$ 17,2), sendo semelhantes aos dados obtidos em estudos conduzidos em outros países (91,93,94,112), mostrando então, que há associação entre o sexo e a idade dos pacientes vítimas de envenenamento ofídico que desenvolveram MAT. Além disso, mais da metade dos envenenamentos que evoluíram para MAT foram provenientes de áreas rurais, e estão relacionados com o trabalho. Este perfil é semelhante a outras regiões do Brasil (113–115), e de outros países (116–118), constatando a forte relação entre os envenenamentos ofídicos, e as atividades rurais em países mais

pobres (116,119). O tempo médio desde o momento do envenenamento até a assistência médica nos pacientes que desenvolveram MAT em nosso estudo foi de seis horas. Na Austrália o tempo médio até a assistência médica para os pacientes que desenvolveram MAT foi de 1,3 horas (93). Na Índia, o tempo desde a picada até a assistência médica foi de 48 horas (94), e no Sri Lanka a média desse tempo de uma hora (112). Em relatos de caso envolvendo pacientes vítimas de envenenamento botrópico no Brasil (95–97), nos relatos de Malaque *et al.*, (96) ambos os pacientes do caso levaram um tempo de quatro 4 horas até a assistência médica; já em Bucarechi (95), é reportado um tempo de sete horas entre o momento do envenenamento, até a assistência médica; e em Mota (97) esse tempo foi de cinco horas. O tempo entre o envenenamento até a assistência médica nos pacientes vítimas de envenenamento ofídico pode variar consideravelmente dependendo da espécie responsável pelo envenenamento e do caso específico. Em relação a terapia antiveneno, recomenda-se que seja realizada o mais precocemente possível, preferencialmente nas primeiras horas após a picada da serpente, sendo importante ressaltar a necessidade de uma resposta rápida e eficaz para garantir o melhor prognóstico ao paciente (6).

Em relação ao tempo de hospitalização observado nos pacientes vítimas de envenenamento botrópico, os pacientes que desenvolveram MAT levam o dobro do tempo internados, quando comparado aos que não desenvolveram MAT, e esse maior tempo de hospitalização também foi observado em pacientes vítimas de envenenamento botrópico em outras regiões do país (95–97). Estudos de relatos de caso de pacientes vítimas de envenenamento botrópico que desenvolveram MAT mostram um tempo de hospitalização elevado. Em Bucarechi *et al.*, (95) houve um seguimento de 50 dias de internação; Mota *et al.*, (97) reporta um acompanhamento de aproximadamente 7 dias; e Malaque *et al.*, (96) são reportados dois casos, onde o primeiro teve um seguimento de aproximadamente oito semanas, e o segundo caso teve um seguimento de quatro semanas. Nossos dados assemelham-se com os dados de outros estudos clínicos, como o de Rao e colaboradores (94), onde os pacientes que desenvolveram MAT levaram uma média de 13 dias de tempo de hospitalização. Além disso, observou-se que a presença da MAT ocorre de forma mais tardia, em torno de 48h após a administração do antiveneno. Assim nossos resultados, associados aos reportados em literatura, mostram que o desenvolvimento de MAT nos envenenamentos ofídicos apresentam um importante fator que leva a um maior tempo de internação dos pacientes. Esse maior tempo de hospitalização apresenta uma relevante importância socioeconômica, gerando um maior custo de despesas médicas e do tempo de trabalho dos pacientes, além de prejuízos sociais associados a possíveis incapacidades dos pacientes .

No estudo de Rao e colaboradores, (94) a média de tempo até o desenvolvimento de MAT foi 72 horas, também apresentando-se de forma mais tardia. Em nosso estudo, observamos que 90% dos pacientes foram diagnosticados com MAT entre 24 à 72 horas após a admissão. Considerando que o diagnóstico foi determinado a partir do momento em que os pacientes apresentaram os três critérios de inclusão (anemia, trombocitopenia e presença de esquizócitos), mas não necessariamente ao mesmo tempo, observamos que os pacientes com MAT apresentaram valores de plaquetas (trombocitopenia) e hemoglobina (anemia) a partir de T2, chegando aos menores valores de hemoglobina em T4 (7 dias após administração do soro). Ainda, em 30% foram observados a presença de esquizócitos até T1 e 90% em T3. Estudos prévios a respeito do desenvolvimento de MAT em envenenamentos ofídicos mostraram que pacientes vítimas de envenenamento por serpentes australianas apresentaram os menores níveis de hemoglobina após 4 dias do envenenamento, e os menores níveis de plaquetas após 2 dias (93). Já os envenenamentos por serpentes no Sri Lanka apresentaram os menores níveis de plaquetas após 3 dias do envenenamento (112). Rao e colaboradores (94), também evidenciaram anemia e trombocitopenia se desenvolveram em uma média de 3 dias após os envenenamentos ofídicos na Índia. Em relação aos casos de MAT em envenenamentos por serpentes do gênero *Bothrops*, Bucarechi e colaboradores (95) relataram que um paciente vítima de envenenamento por *Bothrops jararaca* anemia foi observada no terceiro dia após o envenenamento, apresentando menor valor no décimo dia, associada a uma trombocitopenia que foi observada logo na admissão do paciente (95). Em outro estudo de Malaque e colaboradores (96) reportam relato de caso de dois envenenamentos com *Bothrops jararaca*, um paciente apresentou trombocitopenia na admissão com valor mais baixo no 7 dia, acompanhando de anemia no terceiro dia, com menor nível no 7 dia. Nesse mesmo estudo, o outro paciente apresentou trombocitopenia no segundo dia e menor valor no quarto dia., além de anemia no segundo dia, com menor nível no oitavo dia (96). Em outro estudo de relato de caso, sobre paciente vítima de envenenamento por *Bothrops erythromelas*, anemia foi observada a partir do segundo dia, com menores valores no sexto dia seguido da presença de esquizócitos no esfregaço sanguíneo no terceiro dia e trombocitopenia no segundo dia, com menores valores no dia 4 (97). Assim, os resultados de nosso presente estudo, respaldado por estudos prévios, mostram que a patogênese da MAT nos envenenamentos ofídicos se inicia de uma forma mais lenta, quando comparados a eventos locais (dor, edema) e sistêmicos (VICC, sangramentos), com instalação da MAT de forma mais tardia. Assim, o diagnóstico precoce torna-se uma estratégia de grande importância. A detecção do desenvolvimento de

MAT, o monitoramento, assim como o manejo adequado são extremamente importantes para garantir a eficácia do tratamento, e reduzir o risco de complicações graves.

Em relação as manifestações clínicas, o sangramento no local da picada mostrou-se estatisticamente mais frequente em pacientes que desenvolveram MAT. Nos relatos de caso relacionados aos envenenamentos por *Bothrops jararaca*, todos pacientes com MAT apresentaram equimose no local da picada (95, 96).

Além do sangramento local, nosso estudo mostrou que a ocorrência de sangramentos sistêmicos apresentou um risco de 2,67 vezes maior em pacientes com MAT, onde dentre os sangramentos, pacientes com MAT apresentaram um risco de 2,91 vezes maior de equimose sistêmica e de 17,25 vezes de hematúria. Em relação a envenenamentos por serpentes australianas, Noutsos e colaboradores (93) observaram que cerca de 3% dos pacientes com MAT apresentaram hemorragia grave (exemplo intracraniano ou intestinal) e cerca de 10% apresentaram hemorragias não graves, porém clinicamente relevante, como pele ou mucocutâneo. Esses resultados indicam que a MAT possa estar relacionada a alterações hemostáticas, pela ação de toxinas que atuam sobre a hemostasia, assim como a danos de vasos sanguíneos pela ação de toxinas que atuam sobre a membrana basal endotelial (48). Recentemente, em estudo conduzido por Oliveira e colaboradores (53), quando avaliado os distúrbios hemostáticos nos envenenamentos por *B. atrox* em Manaus, foi reportado sangramento no local da picada em 41% dos pacientes vítimas de envenenamento botrópico, estes apresentando baixos níveis de fator V, II, fibrinogênio, plasminogênio e  $\alpha$ 2-antiplasmina e altos níveis de fator tecidual e FDP, e estes resultados foram semelhantes aos pacientes que tiveram sangramento sistêmico do estudo. Assim, os sangramentos locais e sistêmicos estão relacionados diretamente com a coagulopatia instalada pelo envenenamento, também conhecida como VICC (do inglês *venom induced consumption coagulopathy*). A VICC atende as definições de diagnóstico comumente usados no diagnóstico de coagulação intravascular disseminada (CID), no entanto, a fisiopatologia e o prognóstico da VICC quando comparado a coagulopatia intravascular disseminada (CID) as diferencia (67,120,121).

O prognóstico da VICC sugere que existem diferenças significativas em sua patogênese e clínica quando comparadas a CID. A maioria das evidências sugerem que a VICC é uma coagulopatia adquirida aguda e transitória de distúrbio multifatorial (67). A CID ocorre como reposta a uma variedade de

condições clínicas, estando associada a várias doenças como, sepse, traumas, neoplasias, complicações obstétricas. A CID resulta da interação de vários mecanismos diferentes que resultarão na deposição de fibrina (122,123). E a VICC ocorre especificamente como resultado da ação das toxinas do veneno, ocasionando dano endotelial, levando a destruição de hemácias, plaquetas e ativando a cascata de coagulação, o que leva a diminuição de plaquetas e fatores de coagulação e aumento dos produtos de degradação da fibrina, levando a formação de trombos no sistema vascular, resultando tanto na diminuição dos níveis dessas células, e aumento a tendência de sangramento (67,124,125).

A VICC é caracterizada por um tempo de coagulação prolongado e deficiências do fator de coagulação, ou seja, (hipofibrinogenemia, aumento de INR, TAP e TTPa, valores baixos de fatores de coagulação) e um dímero D elevado, e tem como patogênese a ação de toxinas hematotóxicas, que podem atuar como anticoagulantes (inibindo a cascata de coagulação), ou como pró-coagulantes que ativam a cascata de coagulação, levando ao consumo excessivo de fatores de coagulação e à formação de microtrombos em vasos de menor calibre, causando danos nos tecidos e órgãos (52,91,125–128). Dentre os marcadores utilizados para a determinação de VICC em pacientes vítimas de envenenamento ofídico, o INR (do inglês *international normalized ratio*) e o tempo de tromboplastina parcialmente ativado (TTPa) são ferramentas muito conhecidas, além do tempo de coagulação (TC) apresenta-se como ferramenta auxiliar para o diagnóstico de coagulopatia apesar de sua baixa precisão, principalmente em ambientes onde os recursos são limitados. Dentre os aspectos hemostáticos, associado aos sangramentos, a avaliação laboratorial do tempo de coagulação (TC) mostrou que em 70% dos pacientes com MAT o TC mostrou-se incoagulável no momento da admissão hospitalar. Em relação ao TAP, não foram observadas diferenças entre os pacientes com e sem MAT durante o seguimento. Porém observa-se que esse valor permanece alterado até a alta do paciente. Esses dados podem indicar haver uma coagulopatia instalada devido o envenenamento, levando ao quadro de incoagulabilidade sanguínea, e que podem estar associados ao desenvolvimento de MAT. Em estudo conduzido por Rao e colaboradores (94), a VICC foi determinada pelo TC prolongado (acima de 20 minutos) e/ou pelo aumento de INR (>1,4) e aumento de TTPa, onde seus resultados de INR e TTPa assemelharam-se em ambos os grupos com e sem MAT, também não havendo significância estatística. Ainda, 21% dos pacientes apresentaram VICC no momento da admissão, sendo normalizado entre 1-3 dias, o que parece diferir dos resultados do nosso estudo, uma vez que os pacientes vítimas de envenenamento botrópico apresentam-se com valores de TAP elevados mesmo após o sétimo dia de

seguimento. Nos relatos de casos envolvendo os envenenamentos botrópicos, todos os pacientes apresentaram quadros de VICC (TP+TTPa elevados ou TC incoagulável) na admissão, porém retornando aos seus níveis normais em 24h após a soroterapia antitoxêmica (95-97) Portanto, baseado em nossos estudos e estudos prévios, podemos inferir que, a VICC faz parte do processo de patogênese da MAT, porém não aparenta ser um fator determinante para o prognóstico do desenvolvimento de MAT. A VICC geralmente apresenta um início rápido, porém se resolve dentro de 12–24h após a administração da terapia antiveneno. Porém, o desenvolvimento de MAT tendem a começar 1–3 dias após o envenenamento. Afinal de contas, no próprio critério de diagnóstico de MAT (seja associado ao envenenamento ofídico ou outras patologias) os testes e marcadores de coagulação não são utilizados como ferramentas do diagnóstico. Além disso, outros estudos já foram reportados casos de MAT na ausência de VICC (91). Dentre os mecanismos fisiopatológicos da MAT descreve-se uma lesão patológica específica na qual anormalidades na parede dos vasos das arteríolas e capilares levam à trombose microvascular. Assim, a presença de fibrina intravascular e/ou dano ao endotélio em pequenas arteríolas são fatores importantes na patogênese da MAT (129).

Esses dados sugerem que o MAT pode ser distinto do quadro VICC em alguns casos. Porém, em modelos pré-clínicos, em modelo de envenenamento ratos Wistar injetados com veneno de *Bothrops jararaca*, A ocorrência de MAT foi dependente da ativação da coagulação e geração de trombina intravascular, uma vez que o MAT foi revogado pelo pré-tratamento dos animais com varfarina, um inibidor da síntese de fatores de coagulação dependentes da vitamina K, mostrando que era consequência da coagulação intravascular disseminada (130).

Dentre componentes importantes na fisiopatologia e diagnóstico de MAT, as plaquetas representam relevantes agentes. Em nossos resultados, a presença de trombocitopenia no momento da admissão foi reportada em 20% dos pacientes que evoluíram para MAT, e apresentou um risco de 4,12 vezes maior para o desenvolvimento de MAT. Ainda, é possível observar a diminuição dos valores até o sétimo dia de seguimento (T4), com menores valores observados em T2., com diferença significativa quando comparado os grupos sem e com MAT em T2, T3 e T4. As plaquetas interagem com proteínas da coagulação através dos seus receptores de superfície e fosfolipídios (131,132), além de desempenharem papéis fundamentais nos processos inflamatórios e infecciosos, e serem elementos celulares predominantes no processo de tromboinflamação (111,133,134). No caso do envenenamento

ofídico, a trombocitopenia é um evento onde sua patogênese ainda é pouco conhecida, apresentando uma etiologia multifatorial como modulação da função plaquetária induzida pelas toxinas presentes na peçonha das serpentes, sequestro nas áreas danificadas próximas ao local da picada, e estresse oxidativo induzido pelo veneno, levando ao consumo plaquetário (135,136). Dentre toxinas do veneno de *B. atrox*, metaloproteases e lectinas do tipo C, como trombocitina, batroxostatina, botrocetina e batroxragina, foram descritas por agir sobre plaquetas, levando a trombocitopenia ou alterações na função plaquetária (137–140).

No presente estudo mostrou que a frequência de trombocitopenia aumentou nas primeiras 48 horas após a administração da terapia antiveneno, apresentando um maior tempo de para reestabelecimento de níveis normais quando comparado aos pacientes sem MAT. Os dados obtidos em nosso estudo corroboram com os dados de Oliveira e colaboradores (20), onde a maior frequência da trombocitopenia nos pacientes vítimas de envenenamento botrópico foi no tempo de 48 horas após a administração da terapia antiveneno (frequência de 19,1%), diminuindo na alta (6,7%). Quando comparado a outros estudos envolvendo pacientes que desenvolveram MAT, Rao e colaboradores (94) reportaram que a trombocitopenia e a anemia dos pacientes foram resolvidas em 7 dias de seguimento e esses dados assemelham-se a outros estudos, como o conduzido por Noutsos e colaboradores (93), onde o tempo mediano para o desenvolvimento de trombocitopenia em pacientes que desenvolveram MAT foi 2,4 dias, e o tempo mediano para o aumento dos valores ao nível basal ( $>150.000/\text{mm}^3$ ) foi de 7,7 dias. Em relação aos envenenamento botrópicos, os pacientes que apresentaram MAT apresentaram níveis de plaquetas reduzindo a partir das primeiras 24h até o quarto dia pós envenenamento, restaurando esses valores após em média oito dias (95-97).

Dentre os exames bioquímicos utilizados na investigação de MAT, independentemente da origem etiológica, a LDH e a bilirrubina indireta são marcadores séricos cujo aumento pode estar associado aos quadros de anemia hemolítica. Nas anemias hemolíticas, a relação entre LDH (lactato desidrogenase) e bilirrubina, especialmente a bilirrubina indireta (não conjugada), está intimamente ligada ao processo de destruição das hemácias que ocorre nesse tipo de anemia (141).

A LDH é uma enzima intracelular, que catalisa a conversão do piruvato para lactato, e é liberada quando ocorre dano celular. Nos casos de hemólise, há um aumento na concentração de LDH no sangue,

resultando na lise das hemácias. Por sua vez, a bilirrubina é um produto resultante da degradação da hemoglobina presente nas hemácias após sua destruição. A bilirrubina indireta é gerada durante a quebra da hemoglobina e, em condições normais, é transportada pelo sangue até o fígado, onde é conjugada com outras substâncias para formar a bilirrubina direta, que é então eliminada na bile e nas fezes. Nas anemias hemolíticas, devido à destruição aumentada das hemácias, há um aumento significativo da bilirrubina indireta no sangue, pois há um excesso de bilirrubina produzida que o fígado pode não ser capaz de processar imediatamente (142,143).

Em nosso estudo, a mediana dos valores séricos de LDH apresentou-se acima dos valores de referência em T0, T1 e T4, onde a bilirrubina indireta encontra-se dentro dos valores de referência. Porém, não foi observada diferença nos valores de LDH e bilirrubina indireta entre os grupos de pacientes com MAT e sem MAT. Na revisão sistemática de Noutsos (91) a avaliação da meta-análise dos valores máximos de LDH em pacientes vítimas de envenenamento s ofídicos que desenvolveram MAT apresentou valores acima 2.000 (U/L). Em estudo conduzido por Rao e colaboradores (94) a LDH mostra-se aumentada nos pacientes com MAT, o mesmo sendo observado nos pacientes vítima de envenenamentos ofídicos na Austrália que desenvolveram MAT (93). Já em relação a bilirrubina, no caso clínico descrito por Mota e colaboradores (97), é possível observar o aumento de bilirrubina indireta no terceiro dia após o envenenamento por *Bothrops erythromelas*. Assim, nosso presente estudo mostra que ambas, bilirrubina indireta e LDH não atuam como bons marcadores para o diagnóstico de MAT relacionado ao envenenamento botrópico na Amazônia.

Em nossos resultados mostramos que 100% dos pacientes que desenvolveram MAT também desenvolveram infecção secundária bacteriana (IS). Em estudos anteriores conduzidos com pacientes vítimas de envenenamento botrópico na Amazônia brasileira, foi evidenciado que a frequência de IS havia sido observada em 40% (21), e mais recentemente, em estudo conduzido por Sachett e colaboradores (23) a IS foi observada em 35-44% dos pacientes vítimas de envenenamento botrópico. Sugere-se que a infecção bacteriana secundária por picadas de serpente, pode estar relacionada à microbiota oral e pelas presas da serpente causadoras do envenenamentos (144–148). Entre os fatores associados aos quadros de IS relatado por Sachett e colaboradores (23), foi observado níveis elevados de fibrinogênio no sangue (hiperfibrinogenemia >400mg/dL). Ainda, em nossos resultados a presença de bolha no local da picada apresentou-se com um risco 2,57 vezes maior para o desenvolvimento de

MAT. A formação de bolhas é decorrente da degradação da membrana basal da epiderme decorrente da ação de toxinas presentes na peçonha, que pode ser um fator agravante e ser um facilitador para a entrada de microrganismos, e assim, levar à IS, como já foi relatado em envenenamentos botrópicos na Amazônia, onde a bolha esteve presente em 83% dos casos em que a IS foi reportada (7). Como também já reportado anteriormente em pacientes vítimas de envenenamentos botrópico no Amazonas, foram observados altos níveis de fibrinogênio no conteúdo dessas bolhas (149). Sabe-se que a resposta inflamatória induzida por infecções podem resultar em um aumento na produção de fibrinogênio, considerado um marcador agudo de inflamação infecciosa (não específico) (150). Esse aumento pode apresentar um fator de risco para desenvolvimento de eventos pró-trombóticos, que associado a ação pro-coagulante do veneno (e evidenciado pelos nossos resultados de alterações de parâmetros de coagulação) pode ser responsável pela formação de trombos intravasculares. Ainda, a presença de fibrinogênio no conteúdo de bolhas podem estar associados ao mecanismo de proteção do hospedeiro contra infecções bacterianas (151) mas também pode favorecer a ocorrência de trombos no local da picada. Assim, a associação entre IS e formação de bolhas podem estar associadas a patogênese da MAT em um possível envolvimento com eventos pró-trombóticos pela presença elevada de fibrinogênio. Mais estudos necessitam ser realizados para confirmação desses eventos.

Em relação a comorbidades, a hipertensão, embora eventualmente associada à MAT, é uma importante etiologia. Estudos relacionados aos envenenamentos ofídicos relatam a hipertensão (controlada ou não) como uma comorbidade presente em pacientes que evoluíram a MAT (93, 95-97). Conforme reportada por Khanal e colaboradores (152), os resultados obtidos nesse estudo mostraram que 20% dos pacientes que desenvolveram MAT eram hipertensos no momento da admissão e desenvolveram IRA posteriormente. Em nosso estudo, pacientes hipertensos apresentaram um risco de 2,25 vezes maior de desenvolver MAT, onde 20% desses pacientes desenvolveram IRA posteriormente. A associação entre IRA e hipertensão é um assunto já amplamente fundamentado, onde a hipertensão arterial é responsável por contrair e estreitar os vasos sanguíneos, o que acaba danificando-os e reduzindo o fluxo sanguíneo, levando a uma redução de função renal (153). Nesse contexto, conforme relatado na literatura, associa-se a hipertensão maligna, sendo caracterizada por hipertensão e danos nos órgãos, incluindo a IRA progressiva, muitas vezes tende a ser associada à anemia hemolítica microangiopática. Nessa condição, o mecanismo autorregulatório é falho, resultando em dano à parede vascular. Acredita-se que com o rompimento do endotélio vascular, os constituintes do plasma

(incluindo material fibrinoide) adentram na parede vascular e obliterem o lúmen vascular (154), e consequentemente ocorre o estreitamento luminal levando ao cisalhamento dos eritrócitos (formação de esquizócitos), e consumo de plaquetas (155). Em pacientes que desenvolveram IRA relacionada à hipertensão maligna, a biópsia renal destes, demonstrou a presença de vasculopatia obliterante com necrose fibrinoide, bem como fibrina e coágulos de plaquetas. Acredita-se que esse estreitamento luminal, a fragmentação dos eritrócitos, em conjunto com o consumo plaquetária pode acarretar ao desenvolvimento da MAT (156,157).

Em relação aos marcadores renais comumente, em nossos resultados observou-se que os níveis plasmáticos de ambas creatinina e ureia apresentaram-se aumentados em T1 nos pacientes que desenvolveram MAT, comparados aos pacientes sem MAT. É importante também ressaltar que os níveis de creatinina mantiveram-se acima do valor de referência durante todo período de internação dos paciente (T0 a T4). Em estudo de Wijewickrama (113) com pacientes vítimas de envenenamento por *Hypnale spp.* no Sri Lanka, os autores mostraram que a elevação dos níveis de creatinina inicia-se nos primeiros dias após o envenenamento, atingindo picos dos níveis séricos a partir do quinto dia, porém sem diferença significativa em relação aos pacientes sem MAT. Em contrapartida Noutsos e colaboradores observaram que pacientes que desenvolveram MAT apresentaram valores máximos de creatinina sérica maior que pacientes que não desenvolveram (93). Rao e colaboradores observaram que todos os pacientes com MAT apresentaram valores de creatinina acima dos valores de referência (94). Estudos de relatos de caso envolvendo MAT em envenenamentos botrópicos também mostraram níveis de creatinina elevados desde a admissão dos pacientes, apresentando pico de elevação entre o segundo e o sétimo dia pós envenenamento (95; 96; 97).

Ainda a respeito das complicações associadas a disfunção renal, a hematúria foi observada em 20% dos pacientes com MAT (1,55% sem MAT) (Tabela 3), e observou-se que 20% dos pacientes que desenvolveram MAT apresentaram oligúria/anúria durante o seguimento, sugerindo que sua presença pode ser um fator para o desenvolvimento de MAT, assim como leva a um comprometimento renal associado ao quadro de envenenamento ofídico. Em estudo conduzido por Rao e colaboradores (94) a oligúria/anúria esteve presente em 94,7% dos casos de envenenamento que evoluíram para MAT ( $P < 0,001$ ). Em um dos dois relatos de casos de MAT associado ao envenenamento por *Bothrops jararaca*, o paciente apresentou também apresentou anúria, sendo diagnosticado com insuficiência renal

agudo e sendo submetido a terapia renal substitutiva e a recuperação da função renal ocorreu 8 semanas após envenenamento, necessitando da TRS nas primeiras 4 semanas (95). A oligúria/anúria é uma condição caracterizada pela redução significativa ou ausência de produção de urina, o que pode indicar disfunção renal. Nesse contexto, a sua presença nos pacientes com MAT pode ser explicada pela formação de microtrombos na microcirculação renal, levando à obstrução renal, e obstrução do fluxo sanguíneo nos vasos renais e consequente comprometimento da função renal. A deposição dos microtrombos na circulação, pode afetar a função dos glomérulos, e esse evento, associado a obstrução dos vasos renais, podem levar à diminuição da filtração renal e, conseqüentemente, à redução na produção de urina (106,158,159).

Nesse contexto, assim como reportada na literatura (91), a principal lesão a órgão observada nos pacientes que desenvolveram MAT do nosso estudo foi renal, sendo registrada a IRA em 40% dos pacientes vítimas de envenenamento botrópico, contra 7,1% dos sem MAT. A IRA é uma importante complicação observada nos envenenamentos botrópicos, e possui grande impacto na morbimortalidade das vítimas (160). Estima-se que entre 1,4 a 38,5% de pacientes vítimas de envenenamento botrópico possam desenvolver IRA (160,161), essa variação pode ser relacionada à espécie de serpente envolvida, além da não padronização dos critérios de diagnósticos de IRA para essa condição (160,162). Os dados obtidos em nosso estudo, assemelham-se a outros estudos desenvolvidos na Amazônia brasileira, como o recente estudo conduzido por Brasileiro-Martins e colaboradores (25), onde nesse estudo a IRA foi observada em 38,6% e a hematúria em 45% dos pacientes vítimas de envenenamento botrópico.

No estudo de Noutsos e colaboradores a IRA foi reportada em 94% dos pacientes que desenvolveram MAT (93). No Sri Lanka, a IRA foi reportada em 10% dos pacientes que desenvolveram MAT (163), e na Índia, em estudo conduzido por Rao e colaboradores (94), 100% dos pacientes que desenvolveram MAT também desenvolveram IRA. Em relação a patogênese da IRA nos envenenamentos botrópicos acredita-se que fatores como sangramento, processos inflamatórios, além da deposição de fibrina nos túbulos renais, formação de imunocomplexos e a ação direta do veneno podem estar relacionados (162,164,165). A IRA pode ocorrer em pacientes vítimas de envenenamento botrópico que desenvolveram MAT devido a diversos fatores, como a formação de microtrombos que obstruem os vasos sanguíneos dos rins, levando a diminuição do fluxo sanguíneo renal e a consequente lesão nos túbulos renais. Em estudo conduzido por Amaral e colaboradores (99), no qual foi realizada a

biopsia renal de sete pacientes vítimas de envenenamento por *Bothrops jararacussu*, foi observado nos achados histopatológicos, lesões condizentes com necrose cortical renal (NCR), além da presença de trombos de fibrina, com oclusão trombótica luminal nas artérias e arteríolas. A NCR também foi observada em um caso de uma paciente vítima de envenenamento ofídico que desenvolveu MAT (152), sendo um achado incomum e grave de IRA, resultando em perda de função renal. Além disso, a ativação de células inflamatórias e a liberação de citocinas, podem contribuir para esse quadro de injúria renal.

É importante destacar que a terapia antiveneno é o único tratamento específico para os envenenamentos ofídicos (17), no entanto, não parece ser tão capaz de inibir o desenvolvimento da MAT quanto a terapia antiveneno é eficiente em reverter o quadro de coagulopatia nesses pacientes. Em nosso estudo observamos que mesmo os pacientes que realizaram a terapia antiveneno em tempo oportuno desenvolveram a MAT. A MAT associada ao envenenamento ofídico é uma complicação complexa e multifatorial, e sua patogênese envolve diferentes mecanismos (91). A lesão endotelial parece ser um dos principais eventos que desencadeiam a formação de microtrombos na circulação. Esse dano no endotélio vascular resulta em diferentes alterações na coagulação sanguínea e induz processos inflamatórios, o que pode levar a uma resposta inflamatória sistêmica, ativando o sistema imunológico e a coagulação. A MAT também é associada a uma cascata de eventos que envolvem a ativação e agregação de plaquetas e consumo de fatores de coagulação, também levando a formação de microtrombos, o que levará a complicações sistêmicas (111,167–169). Além disso, seu desenvolvimento pode estar associado a gravidade do envenenamento, a resposta individual do organismo do paciente, e a rapidez com que a terapia antiveneno foi iniciada. Assim, devido essa patogenia multifatorial, e sabendo-se da limitações da soroterapia em reverter quadros do envenenamento (170–172), o soro antiofídico também parece ter limitações quanto a MAT.

A complexidade da MAT torna sua patogênese ainda um campo de estudo ativo, havendo necessidade de mais estudos para a melhor compreensão de todos os mecanismos que a cercam. O diagnóstico precoce e o tratamento adequados são fundamentais para a redução dos danos associados à MAT e a um melhor prognóstico dos pacientes vítimas de envenenamento botrópico.

## 6. CONCLUSÃO

Pela primeira vez foi caracterizado a MAT em pacientes vítimas de envenenamento botrópico na Amazônia brasileira, onde evidenciou-se uma frequência de 12,5% de MAT em pacientes atendidos na FMT-HVD em Manaus. Esse dado mostra que a MAT é uma complicação relativamente frequente nos envenenamentos botrópicos na Amazônia brasileira, quando comparada a frequência de envenenamentos envolvendo outros gêneros de serpentes, sendo diagnosticada mesmo em pacientes que receberam a tratamento antiveneno em tempo oportuno.

Foi observado também importantes manifestações locais associadas ao desenvolvimento da MAT, sangramento no local da picada, além da presença de infecção secundária e bolhas, o que evidenciam que a formação de trombos no local pode estar associados aos eventos microangiopáticos.

A MAT, assim como em envenenamentos por outras serpentes descritos pelo mundo, apresenta um perfil de evolução “tardio” (quando comparado a alguns efeitos locais e sistêmicos de caráter agudo), onde esse desenvolvimento está relacionado a uma patogênese multivariada. Dentre esses, alterações hemostáticas apresentam um envolvimento na patogênese, apesar de não estar associada no momento do diagnóstico da MAT. Assim, estudos mais detalhados são importantes para melhor entender a fisiopatologia da MAT.

Observamos também que o tempo de hospitalização dos pacientes que desenvolveram MAT foi maior que os pacientes que não desenvolveram. Dentre alguns fatores importantes destaca-se a IRA que, apesar de nenhum paciente do presente estudo necessitar de terapia renal substitutiva, mostrou-se mais frequentes em pacientes com MAT.

Assim, o presente estudo levanta dados importantes sobre o desenvolvimento da MAT no envenenamento botrópicos, e chamam atenção para a necessidade de incorporação do diagnóstico desta complicação no plano de manejos de pacientes vítimas de envenenamento botrópico, visando à prevenção de desfechos desfavoráveis para o paciente.

## **7. LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS**

O presente estudo apresentou um caráter observacional dos eventos de MAT nos envenenamentos botrópicos onde, pela primeira vez, foi identificada uma frequência de cerca de 12%. Apesar de ser uma frequência “relativamente alta”, futuros estudo irão requerer uma maior amostragem de pacientes para que possamos obter dados mais seguros, principalmente na perspectiva estatística. Ainda, as próximas etapas a serem desenvolvidas sobre a presente temática de MAT em envenenamentos botrópicos consiste na avaliação fisiopatológica, através da quantificação de marcadores de lesão endotelial, inflamação e coagulação. Dessa forma, poderá a MAT ser melhor entendida e ajudar o manejo dos pacientes admitidos.

## 8. REFERÊNCIAS

1. Kasturiratne A, Wickremasinghe AR, De Silva N, Gunawardena NK, Pathmeswaran A, Premaratna R, et al. The global burden of snakebite: A literature analysis and modelling based on regional estimates of envenoming and deaths. *PLoS Med* [Internet]. 2008;5(11):1591–604. Available from: [www.plosmedicine.org](http://www.plosmedicine.org)
2. World Health Organization. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030. Geneva: World Health Organization. *World Health Organization* [Internet]. 2020;5:196. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240010352>
3. Gutiérrez JM, Calvete JJ, Habib AG, Harrison RA, Williams DJ, Warrell DA. Snakebite envenoming [Internet]. Vol. 3, *Nature reviews. Disease primers*. Nature Publishing Group; 2017 [cited 2022 Feb 17]. p. 17063. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrdp201763>
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 18 de 2022. Ministério da Saúde - *Bol Epidemiológico*. 2022;53:1–37.
5. Brasil. Ministério da Saúde. ACIDENTE POR ANIMAIS PEÇONHENTOS - Notificações registradas no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan [Internet]. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/animaisbr.def>. 2022. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/animaisbr.def>
6. Brasil M da S-S de V em SC-G de D da E em S. *Guia de Vigilância em Saúde : volume único [recurso eletrônico]*. 2019 [cited 2022 Feb 17];3<sup>a</sup>. Available from: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_saude\\_3ed.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_3ed.pdf)
7. Campos Borges C, Sadahiro M, dos Santos MC. Epidemiological and clinical aspects of snake bites in the municipalities of the state of Amazonas, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1999;32(6):637–46.
8. Cardoso J, França F, ... FW-R do I, 2003 U. Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes. *revistas.usp.br* [Internet]. [cited 2022 Feb 17]; Available from: <https://www.revistas.usp.br/rimts/article/download/30767/32651>
9. Alcântara JA, Bernarde PS, Sachett J, da Silva AM, Valente SF, Peixoto HM, et al. Stepping into a dangerous quagmire: Macroecological determinants of Bothrops envenomings, Brazilian Amazon. *PLoS One* [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2022 Mar 12];13(12):e0208532. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0208532>
10. 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 May 21 [cited 2022 Mar 12];9(5):e0003701. Available from: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0003701>
11. Alcântara JA, Bernarde PS, Sachett J, da Silva AM, Valente SF, Peixoto HM, et al. Stepping into a dangerous quagmire: Environmental determinants of human-lancehead pit vipers (*Bothrops* genus) contact resulting in injuries, Brazilian Amazon. *bioRxiv*. 2018;0065:1–15.
12. 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. In: *herpetofauna.com.br* [Internet]. 2018 [cited 2022 Feb 17]. p. 73–99. Available from: [http://www.herpetofauna.com.br/SnakebitesInTheBrazilianAmazon-CurrentKnowledge\\_and\\_Perspectives.pdf](http://www.herpetofauna.com.br/SnakebitesInTheBrazilianAmazon-CurrentKnowledge_and_Perspectives.pdf)
13. 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* [Internet]. 2004 [cited 2022 Feb 17];98(1):28–42. Available from: <https://academic.oup.com/trstmh/article-abstract/98/1/28/1901141>
14. Auerbach PS. The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere. *Wilderness Environ Med* [Internet]. 2005 [cited 2022 Feb 17];16(3):e13–e13. Available from: <https://www.canadianfieldnaturalist.ca/index.php/cfn/article/download/204/204/0>
  15. Oliveira M, Martins O. When and where to find a pitviper: activity patterns and habitat use of the lancehead Bothrops atrox in central Amazonia, Brazil. *Herpetol Nat Hist* [Internet]. 2001 [cited 2022 Feb 17];8(2):101–10. Available from: <https://www.academia.edu/download/31238057/atrox-activity.pdf>
  16. Turci LCB, Albuquerque S de, Bernarde PS, Miranda DB. Uso do hábitat, atividade e comportamento de Bothriopsis bilineatus e de Bothrops atrox (Serpentes: Viperidae) na floresta do Rio Moa, Acre, Brasil. *Biota Neotrop* [Internet]. 2009 [cited 2022 Feb 21];9(3):197–206. Available from: <https://www.scielo.br/pdf/bn/v9n3/v9n3a20.pdf>
  17. 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* [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2022 Mar 11];6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2020.100037>
  18. Moreira V, Gutiérrez JM, Lomonte B, Vinolo MAR, Curi R, Lambeau G, et al. 12-HETE is a regulator of PGE2 production via COX-2 expression induced by a snake venom group IIA phospholipase A2 in isolated peritoneal macrophages. *Chem Biol Interact*. 2020 Feb 1;317:108903.
  19. Gold BS, Dart RC, Barish RA. Bites of Venomous Snakes. *N Engl J Med*. 2002 Aug;347(5):347–56.
  20. 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)* [Internet]. 2019 [cited 2022 Feb 17];11(1). Available from: <https://www.mdpi.com/390594>
  21. Souza ARB. Snakebite by *Bothrops atrox* (Lin. 1758) in the State of Amazonas - Brazil: Study of 212 cases with identified snake [Internet]. Vol. 31, *Revista de Patologia Tropical*. 2002 [cited 2022 Feb 21]. p. 267–8. Available from: [https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as\\_sdt=0%2C5&q=Souza+ARB.+Snakebite+by+Bothrops+atrox+%28Lin.+1758%29+in+the+State+of+Amazonas+-+Brazil%3A+Study+of+212+cases+with+identified+snake.+Rev+Patol+Trop+%5BInternet%5D.+2002+%5Bcited+2015+Mar+17%5D](https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5&q=Souza+ARB.+Snakebite+by+Bothrops+atrox+%28Lin.+1758%29+in+the+State+of+Amazonas+-+Brazil%3A+Study+of+212+cases+with+identified+snake.+Rev+Patol+Trop+%5BInternet%5D.+2002+%5Bcited+2015+Mar+17%5D)
  22. 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 Jul 13;10(7).
  23. 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.
  24. Machado AS, Brasil Barbosa F, Da G, Mello S, Pereira De Oliveira Pardal P. Relato de Caso/Case Report Acidente vascular cerebral hemorrágico associado à acidente ofídico por serpente do gênero bothrops: relato de caso Hemorrhagic stroke related to snakebite by bothrops genus: a

- case report. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43(5):602–4.
25. Brasileiro-Martins LM, Nascimento TP, Silva-Neto AV, Martins F, Cavalcante SA, Martins RB, et al. The severity of acute kidney injury correlates with plasma venom levels in *Bothrops atrox* envenomings. *Toxicon* [Internet]. 2022;219:8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2022.09.010>
  26. White J. Snake venoms and coagulopathy. *Toxicon.* 2005;45(8):951–67.
  27. Calvete JJ. Proteomic tools against the neglected pathology of snake bite envenoming. *Expert Rev Proteomics* [Internet]. 2011 Dec [cited 2022 Mar 12];8(6):739–58. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1586/epr.11.61>
  28. Calvete JJ, Sanz L, Pérez A, Borges A, Vargas AM, Lomonte B, et al. Snake population venomomics and antivenomics of *Bothrops atrox*: Paedomorphism along its transamazonian dispersal and implications of geographic venom variability on snakebite management. *J Proteomics* [Internet]. 2011;74(4):510–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2011.01.003>
  29. 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.
  30. Menezes MC, Furtado MF, Travaglia-Cardoso SR, Camargo ACM, Serrano SMT. Sex-based individual variation of snake venom proteome among eighteen *Bothrops jararaca* siblings. *Toxicon.* 2006;47(3):304–12.
  31. Daltry JC, Wüster W, Thorpe RS. Diet and snake venom variation. Vol. 379, *Nature.* 1996. p. 537–40.
  32. López-Lozano JL, de Sousa MV, Ricart CAO, Chávez-Olortegui C, Flores Sanchez E, Muniz EG, et al. Ontogenetic variation of metalloproteinases and plasma coagulant activity in venoms of wild *Bothrops atrox* specimens from Amazonian rain forest. *Toxicon.* 2002;40(7):997–1006.
  33. Saldarriaga MM, Otero R, Núñez V, Toro MF, Díaz A, Gutiérrez JM. Ontogenetic variability of *Bothrops atrox* and *Bothrops asper* snake venoms from Colombia. *Toxicon.* 2003;42(4):405–11.
  34. Tasoulis T, Isbister GK. A review and database of snake venom proteomes. *Toxins (Basel).* 2017;9(9).
  35. Sousa LF, Portes-Junior JA, Nicolau CA, Bernardoni JL, Nishiyama-Jr MY, Amazonas DR, et al. Functional proteomic analyses of *Bothrops atrox* venom reveals phenotypes associated with habitat variation in the Amazon. *J Proteomics* [Internet]. 2017;159:32–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2017.03.003>
  36. Bernal JCC, Bisneto PF, Pereira JPT, Ibiapina HN dos S, Sarraff LKS, Monteiro-Júnior C, et al. “Bad things come in small packages”: predicting venom-induced coagulopathy in *Bothrops atrox* bites using snake ontogenetic parameters. *Clin Toxicol* [Internet]. 2020;58(5):388–96. Available from: <https://doi.org/10.1080/15563650.2019.1648817>
  37. 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* [Internet]. 2013 [cited 2022 Mar 12];7(9):e2442. Available from: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0002442>
  38. 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(September 2020):1–17.
  39. Hofmann H, Bon C. Blood Coagulation Induced by the Venom of *Bothrops atrox*. 1. Identification, Purification, and Properties of a Prothrombin Activator. *Biochemistry.* 1987;26(3):772–80.

40. Hofmann H, Bon C. Blood Coagulation Induced by the Venom of *Bothrops atrox*. 2. Identification, Purification, and Properties of Two Factor X Activators. *Biochemistry*. 1987;26(3):780–7.
41. Markland FS, Swenson S. Snake venom metalloproteinases. *Toxicon* [Internet]. 2013;62:3–18. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.09.004>
42. Baldo C, Jamora C, Yamanouye N, Zorn TM, Moura-da-Silva AM. Mechanisms of vascular damage by hemorrhagic snake venom metalloproteinases: Tissue distribution and in Situ hydrolysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4(6).
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. Isbister GK. Procoagulant snake toxins: Laboratory studies, diagnosis, and understanding snakebite coagulopathy. *Semin Thromb Hemost*. 2009;35(1):93–103.
45. Gutiérrez JM, Escalante T, Rucavado A. Experimental pathophysiology of systemic alterations induced by *Bothrops asper* snake venom. *Toxicon*. 2009;54(7):976–87.
46. Kini RM. Serine proteases affecting blood coagulation and fibrinolysis from snake venoms. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2006;34(4–5):200–4.
47. Sajevic T, Leonardi A, Križaj I. Haemostatically active proteins in snake venoms. *Toxicon*. 2011;57(5):627–45.
48. 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).
49. Eble JA. Structurally robust and functionally highly versatile—C-type lectin (-related) proteins in snake venoms. *Toxins (Basel)*. 2019;11(3).
50. Teixeira CFP, Landucci ECT, Antunes E, Chacur M, Cury Y. Inflammatory effects of snake venom myotoxic phospholipases A2. *Toxicon*. 2003 Dec 1;42(8):947–62.
51. Sano-Martins IS, Santoro ML. Distúrbios hemostáticos em envenenamentos por animais peçonhentos no Brasil. *Animais Peçonhentos no Brasil: Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes*. 2009;289–309.
52. 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]. 2020;58(4):266–74. Available from: <https://doi.org/10.1080/15563650.2019.1634273>
53. Oliveira SS, Alves EC, Santos AS, Nascimento EF, Pereira JPT, Silva IM, et al. Bleeding Disorders in *Bothrops atrox* Envenomations in the Brazilian Amazon: Participation of Hemostatic Factors and the Impact of Tissue Factor. *Toxins (Basel)*. 2020;12(9).
54. Wellmann IAM, Ibiapina HNS, Sachett JAG, Sartim MA, Silva IM, Oliveira SS, et al. Correlating Fibrinogen Consumption and Profiles of Inflammatory Molecules in Human Envenomation's by *Bothrops atrox* in the Brazilian Amazon. *Front Immunol*. 2020;11(August):1–12.
55. Thomas L, Tyburn B, Bucher B, Pecout F, Ketterle J, Rieux D, et al. Prevention of thromboses in human patients with *Bothrops lanceolatus* envenoming in Martinique: Failure of anticoagulants and efficacy of a monospecific antivenom. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 1995 [cited 2023 Jan 22];52(5):419–26. Available from: <https://europepmc.org/article/med/7771608>
56. Wüster, W., M.G. Salomão, G.J. Duckett RST & B. Mitochondrial DNA evolution of the *Bothrops atrox* species complex (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Kaupia* [Internet]. 1999;8:135–44. Available from: [https://www.academia.edu/1479006/Wuester\\_W\\_M\\_G\\_Salomao\\_G\\_J\\_Duckett\\_R\\_S\\_Thorpe\\_an](https://www.academia.edu/1479006/Wuester_W_M_G_Salomao_G_J_Duckett_R_S_Thorpe_an)

- d\_BBBSP\_1999\_Mitochondrial\_DNA\_evolution\_of\_the\_Bothrops\_atrox\_species\_complex\_Squamata\_Serpentes\_Viperidae\_Kaupia\_8\_135\_144
57. Alberto J, Diaz A, Felipe L, Losada C. Infarto cerebral y accidente ofídico. *Acta Neurol.* 2003;(7):75–9.
  58. Huang YK, Chen YC, Liu CC, Cheng HC, Tu AT, Chang KC. Cerebral Complications of Snakebite Envenoming: Case Studies. *Toxins (Basel).* 2022;14(7):1–18.
  59. Abumiya T, Fitridge R, Mazur C, Copeland BR, Koziol JA, Tschopp JF, et al. Integrin  $\alpha(\text{IIb})\beta 3$  inhibitor preserves microvascular patency in experimental acute focal cerebral ischemia. *Stroke.* 2000;31(6):1402–10.
  60. Thomas L, Tyburn B, Ketterlé J, Biao T, Mehdaoui H, Moravie V, et al. Prognostic significance of clinical grading of patients envenomed by *Bothrops lanceolatus* in Martinique. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1998;92(5):542–5.
  61. 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>
  62. Cañas CA. Brainstem ischemic stroke after to *Bothrops atrox* snakebite. *Toxicon.* 2016;120:124–7.
  63. Martínez-villota VA, Mera-martínez PF, Darío J. Massive acute ischemic stroke after *Bothrops* spp . envenomation in southwestern Colombia : Case report and literature review. 2021;9–17.
  64. Thomas L, Chausson N, Uzan J, Kaidomar S, Vignes R, Plumelle Y, et al. Thrombotic stroke following snake bites by the “Fer-de-Lance” *Bothrops lanceolatus* in Martinique despite antivenom treatment: A report of three recent cases. *Toxicon.* 2006;48(1):23–8.
  65. Merle H, Donnio A, Ayeboua L, Plumelle Y, Smadja D, Thomas L. Occipital infarction revealed by quadransopia following snakebite by *Bothrops lanceolatus*. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;73(3):583–5.
  66. Numeric P, Moravie V, Didier M, Chatot-Henry D, Cirille S, Bucher B, et al. Multiple cerebral infarctions following a snakebite by *Bothrops caribbaeus*. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;67(3):287–8.
  67. Isbister GK. Snakebite doesn’t cause disseminated intravascular coagulation: Coagulopathy and thrombotic microangiopathy in snake envenoming. *Semin Thromb Hemost.* 2010;36(4):444–51.
  68. Arnold DM, Patriquin CJ, Nazy I. Thrombotic microangiopathies: A general approach to diagnosis and management. *Cmaj.* 2017;189(4):E153–9.
  69. George JN, Nester CM. Syndromes of Thrombotic Microangiopathy. *N Engl J Med.* 2014;371(7):654–66.
  70. Moake JL. Thrombotic microangiopathies. 2002;347(8):688–94.
  71. George JN. How I treat patients with thrombotic thrombocytopenic purpura (*Blood* (2010) 116, 20 (4060-4069)). *Blood* [Internet]. 2011 [cited 2022 Mar 13];117(20):5551–2. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article-abstract/116/20/4060/28083>
  72. Schulman S. Recent Advances in Thrombosis and Hemostasis: Part VI. *Semin Thromb Hemost* [Internet]. 2020 [cited 2022 Mar 13];46(8):863–4. Available from: <https://library.wur.nl/WebQuery/titel/2122578>
  73. De La Rubia J, Contreras E, Del Río-Garma J. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2011 [cited 2022 Mar 13];136(12):534–40. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc053024>
  74. Benz K, Amann K. Thrombotic microangiopathy: New insights. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2010;19(3):242–7.

75. Shatzel JJ, Taylor JA. Syndromes of Thrombotic Microangiopathy. *Med Clin North Am*. 2017;101(2):395–415.
76. Rock GA, Shumak KH, Buskard NA. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Ann Intern Med*. 1991;115(SUPPL.3):81.
77. Amorosi EL, Ultmann JE. Thrombotic thrombocytopenic purpura: Report of 16 cases and review of the literature [Internet]. Vol. 45, *Medicine (United States)*. 1966 [cited 2022 Mar 13]. p. 139–59. Available from: [https://journals.lww.com/md-journal/Citation/1966/03000/THROMBOTIC\\_THROMBOCYTOPENIC\\_PURPURA\\_\\_REPORT\\_OF\\_16.3.aspx](https://journals.lww.com/md-journal/Citation/1966/03000/THROMBOTIC_THROMBOCYTOPENIC_PURPURA__REPORT_OF_16.3.aspx)
78. Scully M, Hunt BJ, Benjamin S, Liesner R, Rose P, Peyvandi F, et al. Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies [Internet]. Vol. 158, *British Journal of Haematology*. 2012 [cited 2022 Mar 13]. p. 323–35. Available from: <https://moh-it.pure.elsevier.com/en/publications/guidelines-on-the-diagnosis-and-management-of-thrombotic-thrombocytopenic-purpura-and-other-thrombotic-microangiopathies>
79. Hoffbrand, A. V. - Moss P a. H. *Fundamentos em Hematologia, 7ª Edição (Artmed).pdf*. 7ª edição. 2017. 462 p.
80. McFarlane PA, Bitzan M, Broome C, Baran D, Garland J, Girard L-P, et al. Making the Correct Diagnosis in Thrombotic Microangiopathy: A Narrative Review. *Can J kidney Heal Dis* [Internet]. 2021 Apr 22 [cited 2022 Mar 12];8:20543581211008708. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33996107>
81. Zini G, d’Onofrio G, Erber WN, Lee SH, Nagai Y, Basak GW, et al. 2021 update of the 2012 ICSH Recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes: Impact and revisions. *Int J Lab Hematol*. 2021;43(6):1264–71.
82. Zini G, D ’onofrio G, Briggs C, Erber W, Jou - JM, Lee SH, et al. ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. *Wiley Online Libr* [Internet]. 2012 Apr [cited 2022 Mar 13];34(2):107–16. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1751-553X.2011.01380.x>
83. Tsai H-M, Lian EC-Y. Antibodies to von Willebrand Factor–Cleaving Protease in Acute Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *N Engl J Med*. 1998 Nov 26;339(22):1585–94.
84. Furlan M, Robles R, Galbusera M, Remuzzi G, Kyrle PA, Brenner B, et al. von Willebrand Factor–Cleaving Protease in Thrombotic Thrombocytopenic Purpura and the Hemolytic–Uremic Syndrome. *N Engl J Med*. 1998 Nov 26;339(22):1578–84.
85. Ruggenti P, Noris M, Remuzzi G. Thrombotic microangiopathy, hemolytic uremic syndrome, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Kidney Int*. 2001 Sep 1;60(3):831–46.
86. Mallinckrodt E, Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Elsevier* [Internet]. [cited 2022 Mar 13]; Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673605711442>
87. Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, et al. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2010 [cited 2022 Mar 13];5(10):1844–59. Available from: <https://cjasn.asnjournals.org/content/5/10/1844>
88. Mele C, Lemaire M, Iatropoulos P, Piras R, Bresin E, Bettoni S, et al. Characterization of a new DGKE intronic mutation in genetically unsolved cases of familial atypical hemolytic uremic syndrome. *Am Soc Nephrol* [Internet]. 2015 [cited 2022 Mar 13];10:1011–9. Available from: <https://cjasn.asnjournals.org/content/10/6/1011.short>
89. Moore I, Strain L, Pappworth I, Kavanagh D, Barlow PN, Herbert AP, et al. Association of factor H autoantibodies with deletions of CFHR1, CFHR3, CFHR4, and with mutations in CFH, CFI,

- CD46, and C3 in patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* [Internet]. 2010 [cited 2022 Mar 13];115(2):379–87. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article-abstract/115/2/379/26979>
90. Levi M, Toh CH, Thachil J, Watson HG. Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. *Br J Haematol* [Internet]. 2009 Apr [cited 2022 Mar 13];145(1):24–33. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2141.2009.07600.x>
  91. Noutsos T, Currie BJ, Lek RA, Isbister GK. Snakebite associated thrombotic microangiopathy: a systematic review of clinical features, outcomes, and evidence for interventions including plasmapheresis [Internet]. Vol. 14, *PLoS neglected tropical diseases*. 2020. e0008936 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0008936>
  92. Isbister GK, Little M, Cull G, McCoubrie D, Lawton P, Szabo F, et al. Thrombotic microangiopathy from Australian brown snake (*Pseudonaja*) envenoming. *Intern Med J*. 2007;37(8):523–8.
  93. Noutsos T, Currie BJ, Isoardi KZ, Brown SGA, Isbister GK. Snakebite-associated thrombotic microangiopathy: an Australian prospective cohort study [ASP30]. *Clin Toxicol* [Internet]. 2021;0(0):1–9. Available from: <https://doi.org/10.1080/15563650.2021.1948559>
  94. Rao, Indu Ramachandra; Prabhu, Attur Ravindra; Nagaraju, Shankar Prasad; Rangaswamy D. Thrombotic Microangiopathy: An Under-Recognised Cause of Snake-bite-related Acute Kidney Injury. *Indian J Nephrol*. 2019;324–8.
  95. Bucarechi F, Pimenta MMB, Borrasca-Fernandes CF, Prado CC, Capitani EM De, Hyslop S. Thrombotic microangiopathy following Bothrops jararaca snakebite: case report. *Clin Toxicol*. 2019;57(4):294–9.
  96. Malaque CMS, Duayer IF, Santoro ML. Acute kidney injury induced by thrombotic microangiopathy in two cases of Bothrops envenomation. *Clin Toxicol* [Internet]. 2019;57(3):213–6. Available from: <https://doi.org/10.1080/15563650.2018.1510129>
  97. Mota SMB, Albuquerque PLMM, da Silva Júnior GB, Daher EDF. Thrombotic microangiopathy due to bothrops erythromelas: A case report in northeast brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2020;62(May):1–5.
  98. 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.
  99. Amaral CFS, Da Silva OA, Godoy P, Miranda D. Renal cortical necrosis following Bothrops jararaca and B. jararacussu snake bite. *Toxicon*. 1985;23(6):877–85.
  100. BIOS Diagnóstica. TP CLOT (Tempo de Protrombina). Vol. 10. 2021.
  101. de Brito Sousa JD, Sachett JAG, de Oliveira SS, Mendonça-da-Silva I, Marques HO, de Lacerda MVG, et al. Accuracy of the lee–white clotting time performed in the hospital routine to detect coagulopathy in bothrops atrox envenomation. *Am J Trop Med Hyg*. 2018;98(5):1547–51.
  102. Sano-Martins IS, Fan HW, Castro SCB, Tomy SC, Franca FOS, Jorge MT, et al. Reliability of the simple 20 minute whole blood clotting test (WBCT20) as an indicator of low plasma fibrinogen concentration in patients envenomed by Bothrops snakes. *Toxicon*. 1994;32(9):1045–50.
  103. Ratnayake I, Shihana F, Dissanayake DM, Buckley NA, Maduwage K, Isbister GK. Performance of the 20-minute whole blood clotting test in detecting venom induced consumption coagulopathy from russell’s viper (*Daboia russelii*) bites. *Thromb Haemost*. 2017;117(3):500–7.
  104. Sachett, Jacqueline de Almeida Gonçalves; Wen, Fan Hui; Monteiro WM. Guia para o tratamento dos acidentes ofídicos. *Toxins (Basel)*. 2022;51.

105. Zeng X, McMahon GM, Brunelli SM, Bates DW, Waikar SS. Incidence, outcomes, and comparisons across definitions of AKI in hospitalized individuals. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2014;9(1):12–20. Available from: [www.cjasn.org](http://www.cjasn.org)
106. Kdigo. Clinical Practice Guideline for Lipid Management in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int* [Internet]. 2013;3(3):182–9. Available from: [www.publicationethics.org](http://www.publicationethics.org)
107. Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, Dellinger EP, Goldstein EJC, Gorbach SL, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft tissue infections: 2014 update by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis*. 2014;59(2).
108. Bisno, Allan and Stevens DL. Animal Lesions Due To Rapid Decompression. *Experimental Study. Mil Med*. 1964;129:764–9.
109. 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.
110. Sachett J de AG. Baixa eficácia do uso preemptivo da amoxicilina/clavulanato para prevenção de infecção secundária em acidentes botrópicos na Amazônia Brasileira : ensaio clínico controlado e randomizado. Vol. 87, UEA. 2017.
111. Teixeira C, Fernandes CM, Leiguez E, Chudzinski-Tavassi AM. Inflammation Induced by Platelet-Activating Viperid Snake Venoms: Perspectives on Thromboinflammation. *Front Immunol*. 2019;10(September):1–13.
112. Wijewickrama ES, Gooneratne L V., Gnanathasan A, Gawarammana I, Gunatilake M, Isbister GK. Thrombotic microangiopathy and acute kidney injury following Sri Lankan *Daboia russelii* and *Hypnale* species envenoming. *Clin Toxicol* [Internet]. 2020;58(10):997–1003. Available from: <https://doi.org/10.1080/15563650.2020.1717509>
113. Moreno E, Queiroz-Andrade M, Lira-Da-Silva RM, Tavares-Neto J. Clinical and epidemiological characteristics of snakebites in Rio Branco, Acre. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005;38(1):15–21.
114. Feitosa RFG, Melo IMLA, Monteiro HSA. Epidemiologia dos acidentes por serpentes peçonhentas no Estado do Ceará - Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1997;30(4):295–301.
115. Lima JS, Júnior HM, Martelli DRB, Da Silva MS, De Carvalho SFG, Canela JDR, et al. Perfil dos acidentes ofídicos no norte do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42(5):561–4.
116. Harrison RA, Hargreaves A, Wagstaff SC, Faragher B, Lalloo DG. Snake envenoming: A disease of poverty. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(12).
117. Sharma SK, Koirala S, Dahal G, Sah C. Clinico-epidemiological features of snakebite: A study from eastern nepal. *Trop Doct*. 2004;34(1):20–2.
118. Mohapatra B, Warrell DA, Suraweera W, Bhatia P, Dhingra N, Jotkar RM, et al. Snakebite mortality in India: A nationally representative mortality survey. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5(4):1–9.
119. Feitosa ESL. Fatores De Risco Para Gravidade E Letalidade Dos Acidentes Ofídicos Ocorridos No Estado Do Amazonas: Um Estudo De Caso E Controle. *Dissertação*. 2015;107.
120. Boral BM, Williams DJ, Boral LI. Disseminated intravascular coagulation. *Am J Clin Pathol*. 2016;146(6):670–80.
121. Lee DH, Lee BK, Jeung KW, Park JS, Lim YD, Jung YH, et al. Performance of 5 disseminated intravascular coagulation score systems in predicting mortality in patients with severe trauma. *Med (United States)*. 2018;97(33):1–7.
122. Levi M. Current understanding of disseminated intravascular coagulation. *Br J Haematol*. 2004;124(5):567–76.

123. Levi M, Van Der Poll T, Ten Cate H. Tissue factor in infection and severe inflammation. *Semin Thromb Hemost*. 2006;32(1):33–9.
124. 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>
125. Isbister GK, Scorgie FE, O’leary MA, Seldon M, Brown SGA, Lincz LF. Factor deficiencies in venom-induced consumption coagulopathy resulting from Australian elapid envenomation: Australian Snakebite Project (ASP-10). *J Thromb Haemost* [Internet]. 2010;8(11):2504–13. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2010.04050.x>
126. Maduwage K, Isbister GK. Current Treatment for Venom-Induced Consumption Coagulopathy Resulting from Snakebite. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(10).
127. Maduwage K. Snakebite Coagulopathy: Controversies in understanding and management. *Sri Lanka J Med*. 2017;26(2):38–54.
128. Park EJ, Choi S, Kim H. Venom induced consumptive coagulopathy from a Pit Viper bite. *Toxins (Basel)*. 2020;12(295).
129. Zheng XL, Sadler JE. Pathogenesis of thrombotic microangiopathies. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2008;3:249–77.
130. Senise L V., Yamashita KM, Santoro ML. Bothrops jararaca envenomation: Pathogenesis of hemostatic disturbances and intravascular hemolysis. *Exp Biol Med*. 2015;240(11):1528–36.
131. Maureane Hoffman. Remodeling the Blood Coagulation Cascade. *J Thromb Thrombolysis*. 2003;16(1–2):17–20.
132. Roberts HR, Lozier JN. New perspectives on the coagulation cascade. *Hosp Pract*. 1992;27(1).
133. Katoh N. Platelets as versatile regulators of cutaneous inflammation. *J Dermatol Sci*. 2009;53(2):89–95.
134. Von Hundelshausen P, Weber C. Platelets as immune cells: Bridging inflammation and cardiovascular disease. *Circ Res*. 2007;100(1):27–40.
135. Sunitha K, Hemshekhar M, Thushara RM, Santhosh MS, Sundaram MS, Kemparaju K, et al. Inflammation and oxidative stress in viper bite: An insight within and beyond. *Toxicon* [Internet]. 2015;98(February):89–97. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.02.014>
136. Simon, Toby L. and Grace TG. Envenomation Coagulopathy in wounds from pit vipers. *N Engl J Med*. 1981;234(10):327–9.
137. 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.
138. Rucinski B, Niewiarowski S, Holt JC, Soszka T, Knudsen KA. Batroxostatin, an Arg-Gly-Asp-containing peptide from *Bothrops atrox*, is a potent inhibitor of platelet aggregation and cell interaction with fibronectin. *BBA - Mol Cell Res*. 1990;1054(3):257–62.
139. Read MS, Shermer RW, Brinkhous KM. Venom coagglutinin: An activator of platelet aggregation dependent on von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1978;75(9):4514–8.
140. Freitas-De-Sousa LA, Amazonas DR, Sousa LF, Sant’Anna SS, Nishiyama MY, Serrano SMT, et al. Comparison of venoms from wild and long-term captive *Bothrops atrox* snakes and characterization of Batroxrhagin, the predominant class PIII metalloproteinase from the venom of this species. *Biochimie*. 2015;118:60–70.
141. Phillips J, Henderson AC. Hemolytic anemia: Evaluation and differential diagnosis. *Am Fam Physician*. 2018;98(6):354–61.
142. Kato GJ, McGowan V, Machado RF, Little JA, Taylor VI J, Morris CR, et al. Lactate

- dehydrogenase as a biomarker of hemolysis-associated nitric oxide resistance, priapism, leg ulceration, pulmonary hypertension, and death in patients with sickle cell disease. *Blood* [Internet]. 2006 Mar 15 [cited 2023 Jul 24];107(6):2279–85. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16291595/>
143. A. V. Hofbrand PAHM. *Fundamentos em Hematologia (7ª Edição, Artmed 2018)*. Artmed; 2018.
  144. 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.
  145. Goldstein EJC. Bite Wounds and Infection. *Clin Infect Dis*. 1992;14(3):633–40.
  146. Bastos HM, Lopes LFL, Gattamorta MA, Matushima ER. Prevalence of enterobacteria in bothrops jararaca in São Paulo State: Microbiological survey and antimicrobial resistance standards. *Acta Sci - Biol Sci*. 2008;30(3):321–6.
  147. Jorge MT, Ribeiro LA, Da Silva MLR, Kusano EJU, de Mendonça JS. Microbiological studies of abscesses complicating *Bothrops* snakebite in humans: A prospective study. *Toxicon*. 1994;32(6):743–8.
  148. Garg A, Sujatha S, Garg J, Acharya NS, Parija SC. Wound infections secondary to snakebite. *J Infect Dev Ctries*. 2009;3(3):221–3.
  149. 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.
  150. Vilar R, Fish RJ, Casini A, Neerman-Arbez M. Fibrin(ogen) in human disease: Both friend and foe. *Haematologica*. 2020;105(2):284–96.
  151. Kearney KJ, Ariëns RAS, MacRae FL. The Role of Fibrin(ogen) in Wound Healing and Infection Control. *Semin Thromb Hemost* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2023 Jul 24];48(2):174–87. Available from: <http://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-0041-1732467>
  152. Khanal N, Upadhyay S, Dahal S, Bhatt VR, Bierman PJ. Differentiating malignant hypertension-induced thrombotic microangiopathy from thrombotic thrombocytopenic purpura. *Ther Adv Hematol*. 2015;6(3):97–102.
  153. Mennuni S, Rubattu S, Pierelli G, Tocci G, Fofi C, Volpe M. Hypertension and kidneys: Unraveling complex molecular mechanisms underlying hypertensive renal damage. *J Hum Hypertens* [Internet]. 2014;28(2):74–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/jhh.2013.55>
  154. Strandgaard S, Paulson OB. Cerebral blood flow and its pathophysiology in hypertension. *Am J Hypertens*. 1989;2(6 I):486–92.
  155. Shibagaki Y, Fujita T. Thrombotic microangiopathy in malignant hypertension and hemolytic uremic syndrome (HUS)/thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP): Can we differentiate one from the other? *Hypertens Res*. 2005;28(1):89–95.
  156. Zhang B, Xing C, Yu X, Sun B. Severe Hypertension. In: *Acute Medicine*. 2008. p. 219–23.
  157. Akimoto T, Muto S, Ito C, Takahashi H, Takeda S, Ando Y, et al. Clinical features of malignant hypertension with thrombotic microangiopathy. *Clin Exp Hypertens*. 2011;33(2):77–83.
  158. Oliveira NA De, Cardoso SC, Barbosa DA. Acute kidney injury caused by venomous animals : inflammatory mechanisms. (August 2021):1–12.
  159. Arnold DM, Patriquin CJ, Nazy I. Thrombotic microangiopathies: A general approach to diagnosis and management. *CMAJ*. 2017 Jan 30;189(4):E153–9.
  160. Albuquerque PLMM, Junior GB da S, Meneses GC, Martins AMC, Lima DB, Raubenheimer J, et al. Acute kidney injury induced by bothrops venom: Insights into the pathogenic mechanisms. *Toxins (Basel)*. 2019;11(3):1–14.

161. Albuquerque PLMM, Jacinto CN, Silva Junior GB, Lima JB, Veras MDSB, Daher EF. Lesão renal aguda causada pelo veneno das cobras *Crotalus* e *Bothrops*: Revisão da epidemiologia, das manifestações clínicas e do tratamento. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2013;55(5):295–301.
162. Albuquerque PLMM, Jacinto CN, Silva Junior GB, Lima JB, Veras MDSB, Daher EF. Lesão renal aguda causada pelo veneno das cobras *Crotalus* e *Bothrops*: Revisão da epidemiologia, das manifestações clínicas e do tratamento [Internet]. Vol. 55, *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. Instituto de Medicina Tropical de São Paulo; 2013 [cited 2022 Sep 17]. p. 295–301. Available from: <http://www.scielo.br/j/rimtsp/a/8Qy9RKGjGFSTfZc3kSZ3KQc/?stop=previous&format=html&lang=en>
163. Wijewickrama ES, Gooneratne L V., Gnanathasan A, Gawarammana I, Gunatilake M, Isbister GK. Severe acute kidney injury following Sri Lankan *Hypnale* spp. envenoming is associated with thrombotic microangiopathy. *Clin Toxicol* [Internet]. 2021;59(4):296–302. Available from: <https://doi.org/10.1080/15563650.2020.1810695>
164. Machado Braga MD, Costa Martins AM, Alves CD, de Menezes DB, Martins RD, Ferreira Barbosa PS, et al. Purification and renal effects of phospholipase A2 isolated from *Bothrops insularis* venom. *Toxicon*. 2008;51(2):181–90.
165. De Castro I, Burdmann EDA, Seguro AC, Yu L. *Bothrops* venom induces direct renal tubular injury: Role for lipid peroxidation and prevention by antivenom. *Toxicon*. 2004;43(7):833–9.
166. Gn YM, Ponnusamy A, Thimma V. Snakebite Induced Thrombotic Microangiopathy Leading to Renal Cortical Necrosis. *Case Reports Nephrol*. 2017;2017:1–3.
167. Blasco M, Guillén-Olmos E, Diaz-Ricart M, Palomo M. Complement Mediated Endothelial Damage in Thrombotic Microangiopathies. *Front Med*. 2022;9(April):1–12.
168. Cauchois R, Muller R, Lagarde M, Dignat-George F, Tellier E, Kaplanski G. Is Endothelial Activation a Critical Event in Thrombotic Thrombocytopenic Purpura? *J Clin Med*. 2023;12(3).
169. Mathew RO, Nayer A, Asif A. The endothelium as the common denominator in malignant hypertension and thrombotic microangiopathy. *J Am Soc Hypertens* [Internet]. 2016;10(4):352–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jash.2015.12.007>
170. Muniz EG, Maria WS, Estevão-Costa MI, Buhrnheim P, Chávez-Olórtegui C. Neutralizing potency of horse antithropic Brazilian antivenom against *Bothrops* snake venoms from the Amazonian rain forest. *Toxicon*. 2000;38(12):1859–63.
171. Furtado M de FD, Cardoso ST, Soares OE, Pereira A Pietro, Fernandes DS, Tambourgi DV, et al. Antigenic cross-reactivity and immunogenicity of *Bothrops* venoms from snakes of the Amazon region. *Toxicon*. 2010;55(4):881–7.
172. Laustsen AH, María Gutiérrez J, Knudsen C, Johansen KH, Bermúdez-Méndez E, Cerni FA, et al. Pros and cons of different therapeutic antibody formats for recombinant antivenom development. *Toxicon*. 2018;146:151–75.

## 9. APENDICE - POP do Método May-Grunwald-Giemsa (modificado)

Código a ser colocado pelo Setor da Qualidade

Página 1 de 3

**PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO**  
**INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA CARLOS BORBOREMA**  
**FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DOUTOR HEITOR VIEIRA DOURADO**

<b>Código POP</b>		<b>Versão 01</b>	
<b>Título</b>	Protocolo de coloração de lâminas hematológicas pelo Método de May-Grunwald-Giemsa (modificado)		
<b>Língua do Documento</b>	Português (Br)		
<b>Elaborado por:</b> Karolaine Bentes	<b>Revisado por:</b> Marco Aurélio Sartim	<b>Aprovado por:</b>	<b>Data de aprovação:</b>

### 1. OBJETIVO

Este documento visa padronizar e estabelecer procedimento completo da coloração pelo método de May-Grunwald-Giemsa em lâminas de extensão hematológica para análise diferencial no âmbito do Laboratório Multidisciplinar do Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema – IPCCB.

### 2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Laboratório de Hematologia.

### 3. DEFINIÇÕES

Para efeito deste POP, são adotadas as seguintes definições (de acordo com a bula dos fabricantes):

Eosina (corante ácido): Cora os componentes citoplasmáticos básicos da célula (eosinófilo ou acidófilos), de rosa-alaranjado;

Azul de metileno (corante básico): Cora o núcleo e componentes citoplasmáticos ácidos (basófilos) de azul-arroxeados;

\*Ambos os corantes citados **acima**, coram as granulações (neutrófilos) de rosa;

Azur de Metileno: Cora granulações (azurófilas) de vermelho purpura.

### 4. RESPONSABILIDADES

Todos os usuários do laboratório com devida capacitação para realizar tal atividade.

### 5. PROCEDIMENTO

#### 5.1.1 COLORAÇÃO PELO MÉTODO MAY-GRUNWALD-GIEMSA

#### 5.1.2 MATERIAIS

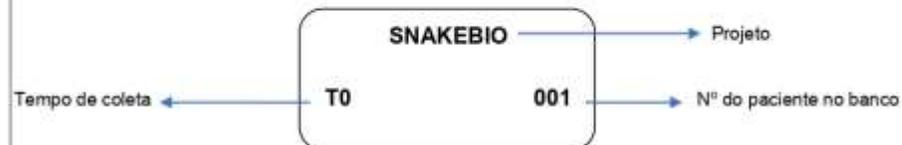
- Amostra de sangue total coletada em tubo contendo EDTA, também podendo ser



da lâmina.

### 5.2.7 ETIQUETAS DE ARMAZENAMENTO DAS LÂMINAS

Exemplo:



### 6. REFERÊNCIAS

ANDRIOLO, A. et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de patologia clínica medicina laboratorial para coleta de sangue venoso. 2ª edição. ISBN 978-85-98416-94-6. Barueri-SP-Brasil. Editora Manole Ltda. 2010.

TELELAB. Coleta de sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, AIDS e Hepatites Virais – Ministério da Saúde, 2010.





## b. ANEXO II – Parecer do Comitê de Ética

FUNDAÇÃO DE MEDICINA  
TROPICAL "DOUTOR HEITOR  
VIEIRA DOURADO"



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação do perfil clínico-inflamatório dos acidentes botrópicos

**Pesquisador:** Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 39345520.9.0000.0005

**Instituição Proponente:** Diretoria de Ensino e Pesquisa - DENPE

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.478.678

#### Apresentação do Projeto:

O objetivo será estabelecer o perfil clínica-epidemiológico-inflamatório dos acidentes botrópicos em um centro de referência da Amazônia Brasileira.

Trata-se de uma coorte prospectiva com pacientes vítimas de envenenamento botrópicos atendidos na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor

Vieira Dourado, acometidos por acidentes botrópicos no período de julho/2020 a julho/2025. A população considerada para o presente estudo

corresponderá aos pacientes atendidos pela instituição com acidentes botrópicos, média de 160 pacientes/ano. O tamanho amostral foi definido como no mínimo 100 pacientes ano no total de 5 anos, assim serão 500 pacientes. Os pacientes elegíveis para o estudo serão todos aqueles que não tenham realizado a soroterapia para o acidente botrópico atual.

#### Objetivo da Pesquisa:

Vide Parecer de Número: 4.400.803

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Vide Parecer de Número: 4.400.803

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Vide Parecer de Número: 4.400.803

#### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide Parecer de Número: 4.400.803

**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@fmlam.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA  
TROPICAL "DOUTOR HEITOR  
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 4.478.678

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O presente Protocolo apresentou as seguintes pendências:

Pendência 1. Corrigir o Termo "TCLE para menores de idade por" TALE-TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO" e estratificar o TALE por faixa etária.

Resposta: Termo de Assentimento Livre Esclarecido foi anexado. Faixa etária de 10 a 17 anos - PENDÊNCIA ATENDIDA.

Pendência 2. A Gerência de Ambulatório também será envolvida na captação dos participantes - Solicita-se TERMO DE ANUÊNCIA.

Resposta: TERMO DE ANUÊNCIA anexado - PENDÊNCIA ATENDIDA.

Pendência 3. No Termo de REGULAMENTO INTERNO PARA ARMAZENAMENTO E ANÁLISE DE AMOSTRA BIOLÓGICA, inserir o termo TALE .Por exemplo: "Antes da utilização das amostras em qualquer experimento, as informações disponíveis no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e no TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO (TALE)...";

Resposta: o Regulamento interno para armazenamento e análise de amostra biológica foi ajustado e anexada nova versão na plataforma.

Pendência4. Os exames: Fibrinogênio; TAP e Tempo de coagulação serão realizados no HEMOAM. Solicita -se Anuência da FHEMOAM - PENDÊNCIA ATENDIDA.

Resposta: Anuência anexada na Plataforma Brasil.

5. Os exames: Teste de Elisa – Venenemia será realizado no Butantan. Solicita-se Anuência do pesquisador do Instituto Butantan,.

Resposta: Anuência anexada na plataforma - PENDÊNCIA ATENDIDA.

6. Informar fonte de financiamento próprio no valor de R\$ 40.000,00, especificado:

Resposta: Ainda não possuímos financiamento para análise das amostras, assim estas serão armazenadas e iremos submeter as agências de fomento para aquisição de recurso.

PENDÊNCIA ATENDIDA.

Diante das solicitações atendidas, sugere-se a APROVAÇÃO DO PROTOCOLO DE PESQUISA.

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@fml.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA  
TROPICAL "DOUTOR HEITOR  
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 4.478.678

**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 o final, do estudo conforme prevê a Resolução CNS nº 466/2012, utilizando o formulário de Roteiro para Relatório Parcial/Final de estudos clínicos Unicêntricos e Multicêntricos, proposto pela CONEP em nossa home page.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1648304.pdf	10/12/2020 12:16:48		Aceito
Outros	ARMAZENAMENTO_AMOSTRA.pdf	10/12/2020 12:16:23	Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett	Aceito
Outros	Anuencia_FMT_Ambulatorio.pdf	10/12/2020 12:15:51	Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett	Aceito
Outros	Anuencia_HEMOAM.pdf	10/12/2020 12:15:21	Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett	Aceito
Outros	Anuencia_Butantan.pdf	10/12/2020 12:15:02	Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett	Aceito
Outros	Carta_resposta_CEP.pdf	10/12/2020 12:14:04	Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_CEP_Infantil.docx	10/12/2020 12:13:29	Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett	Aceito
Outros	CARTA_DE_ANUENCIA.pdf	15/10/2020 12:26:14	Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_JACQUELINE.pdf	15/10/2020 12:23:47	Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett	Aceito
Outros	PRONTUARIO_Biorrepositorio.docx	14/10/2020 21:23:08	Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett	Aceito
Outros	Plano_CONEP.pdf	14/10/2020 21:21:46	Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett	Aceito
TCLE / Termos de	TCLE_CEP_Adulto.docx	14/10/2020	Jacqueline de	Aceito

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@fmlam.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA  
TROPICAL "DOUTOR HEITOR  
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 4.476.678

Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CEP_Adulto.docx	21:19:46	Almeida Gonçalves Sachett	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Biorrepositorio.docx	14/10/2020 21:19:37	Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

MANAUS, 21 de Dezembro de 2020

---

**Assinado por:**  
**Marilaine Martins**  
**(Coordenador(a))**

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

**c. ANEXO III – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE**



**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**Título do Estudo: Avaliação do perfil clínico-inflamatório dos acidentes botrópicos - SNAKEBIO**

**PESQUISADOR PRINCIPAL: Dra. Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett**  
**Centro de pesquisa: Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado**  
**TELEFONE: (092) 2127-3598**

Por favor leia estas informações com atenção. Tome o tempo necessário para fazer as perguntas que você quiser. A equipe do estudo explicará qualquer palavra ou informação que você não entenda claramente.

**1. INTRODUÇÃO**

Você está sendo convidado para participar de um estudo clínico porque foi diagnosticado com acidente ofídico. A equipe que conduz o estudo acha que você tem as condições iniciais para poder participar do estudo. Antes de concordar em participar do estudo, é muito importante que você entenda as informações fornecidas neste documento e quais serão as implicações para você durante o período do estudo. Este termo descreve o objetivo, os procedimentos, os benefícios, os riscos, os desconfortos e as precauções do estudo. Descreve também os procedimentos alternativos que estão disponíveis para você e seu direito para se retirar do estudo a qualquer momento. Caso você concorde e assine este documento, uma cópia ficará conosco e a outra cópia será sua.

Você deve ser bem sincero com seu médico a respeito do seu histórico de saúde, incluindo o uso anterior e atual de outras medicações. Caso contrário, você poderá ser prejudicado ao participar desse estudo.

Se não puder ler ou escrever, uma testemunha, que é uma pessoa independente, do patrocinador e do médico lerá este documento para você. Se concordar com a participação, sua impressão digital (carimbo do seu dedo polegar) substituirá a sua assinatura.

**2. DESCRIÇÃO DO ESTUDO**

Este estudo clínico será realizado na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMTHVD), que é um centro de saúde em Manaus (AM) que há muitos anos trata pessoas com acidente ofídico. Neste estudo serão acompanhadas aproximadamente 500 pacientes com mais de 10 anos de idade.

Se você concordar em participar desse estudo e tiver as condições para ser selecionado, você será acompanhado pela equipe de pesquisadores por 7 dias consecutivos a partir da data do acidente.

Página 1 de 6

Rubrica do Participante/ Representante legal: \_\_\_\_\_ Rubrica do(a) pesquisador(a) responsável/delegado(a): 



### 3. PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Se você concordar com a participação Iho no estudo, o médico realizará um exame físico, coleta de amostras de sangue, verificará o histórico médico, bem como uso de medicações anteriores e atuais.

#### 3.1 Visitas

Nos 3 primeiros dias, você deverá permanecer internado para realizar exames diários para avaliação do envenenamento ofídico.

A partir daí, ele deverá ser atendido pela equipe do estudo no 7º dia apenas no retorno ambulatorial.

Em cada visita, será realizado um exame clínico e físico. Em todas as visitas, uma pequena quantidade de sangue será retirada por meio de uma punção venosa e será coletada e guardada para análises complementares.

A equipe buscará reduzir a uma coleta de sangue por visita e sempre conversará com o senhor sobre isso. Todos os resultados desses exames serão comunicados a você e permanecerão confidenciais.

#### 3.2 Exame Físico e Avaliação física

Você passará por um exame físico na inclusão do estudo, incluindo medir temperatura corporal, frequência da respiração, frequência do coração e a pressão do seu sangue. Faremos medição de altura, peso, perímetro cefálico, otoscopia, oroscopia, inspeção geral e avaliação do local da picada. Essa avaliação será feita na admissão, durante a internação e nos atendimentos ambulatoriais (7º dia) e em qualquer momento que ele tenha algum sintoma durante o acompanhamento

#### 3.3 Coleta de sangue

O sangue será coletado para realização de diferentes exames nos dias: 0, 1º, 2º, 3º e 7º de acompanhamento.

Vamos coletar 20 mL de sangue do braço (um pouco mais que uma colher de sopa). Esses exames incluem testes para identificação do veneno e para saber sobre a sua saúde. Também vamos guardar um pouco do seu sangue para fazer exames depois e saber mais sobre o envenenamento.

#### 3.4 Coleta de secreção do local da picada

No local da picada podem ocorrer bolhas com secreção e infecção local, neste caso, seria necessário a coleta do material para estudar a presença de veneno e de bactérias que fizeram a complicação local ocorrer. Os exames destas secreções ajudarão a entender o processo de gravidade local e saber qual a melhor forma de prevenir e tratar estes sinais e sintomas.

Por favor, informe abaixo se você concorda ou não, marcando com X uma das opções. Se decidir que não, não tem problema. Você poderá continuar no estudo mesmo assim e não perguntaremos mais sobre isso.

( ) Sim, concordo

( ) Não, não concordo

Atenção: Esses exames não atrasarão o início do tratamento da doença.



#### 4. RISCOS OU INCONVENIÊNCIAS RAZOAVELMENTE PREVISÍVEIS

Os riscos deste estudo são, basicamente, os possíveis eventos indesejados dos procedimentos médicos como, por exemplo, o incômodo ao realizar a coleta de sangue.

Coleta de sangue: os riscos de coletar sangue são muito pequenos e podem incluir tonturas, dor, manchas arroxeadas ou infecção. Você pode ter uma pequena dor durante a introdução da agulha.

#### 5. BENEFÍCIOS RAZOAVELMENTE ESPERADOS

Esse estudo clínico oferece benefício individual direto para os participantes porque os procedimentos realizados ajudarão a determinar um perfil clínico-epidemiológico-inflamatório dos acidentes botrópicos. Os exames laboratoriais realizados permitirão ao médico do estudo determinar a sua evolução para melhorar ou não sua saúde e será monitorado de perto por 7 dias.

Além disso, você deverá retornar à clínica para futuras avaliações e/ou tratamentos se você estiver ainda com sintomas do acidente ofídico.

A sua participação nos ajudará a entender melhor o envenenamento ofídico e atingir os objetivos do estudo. A sua comunidade também poderá se beneficiar dos resultados deste estudo no futuro.

#### 6. PROCEDIMENTOS OU TRATAMENTOS ALTERNATIVOS

Mesmo se você decidir que não deve participar do estudo, você receberá um tratamento adequado. Se tiver dúvidas a respeito das alternativas de tratamento, favor fazer as suas perguntas ao seu médico do estudo. Você e seu médico podem decidir qual o melhor tratamento para você.

#### 7. PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA NO ESTUDO – RETIRADA DO ESTUDO

A sua participação de neste estudo é totalmente voluntária. Você tem o direito de retirar a participação dele a qualquer momento e por qualquer razão. Recusar-se a participar ou descontinuar o estudo não afetará a assistência médica a você ou perda de benefícios aos quais você tenha direito de outra forma. A recusa não afetará sua relação com o seu médico.

A participação dele neste estudo será interrompida pelos motivos a seguir, você concorde ou não:

- Se eu não seguir os procedimentos do estudo,
- Se, na opinião do médico do estudo, for o melhor para você,
- Se as autoridades regulatórias responsáveis ou o Comitê de Ética decidir encerrar o estudo.

Antes da sua participação no estudo clínico, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deve ser pessoalmente assinado e datado por você, ou por uma testemunha imparcial, se você não puder ler ou escrever (neste caso você fornece sua digital) e pela pessoa que conversou sobre o consentimento livre e esclarecido.

Antes de assinar esse termo (ou deixar sua impressão digital como assinatura), você deverá fazer todas as perguntas que tiver sobre o que você não entendeu. A equipe responsável pelo estudo responderá suas perguntas.

Você receberá uma via deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e poderá solicitar informações adicionais a qualquer momento durante o estudo, do médico no centro ou poderá entrar em contato no número de telefone que está neste termo.



## 8. RESPONSABILIDADES DO PACIENTE/RECOMENDAÇÕES PRÁTICAS

A partir do primeiro dia e até o final do estudo, você não deverá tomar qualquer outra medicação sem conversar antes com o médico. Se atualmente ele estiver tomando outros medicamentos é importante que você informe ao médico.

Se você faltar a uma consulta, uma pessoa do centro de saúde entrará em contato para verificar porque ele faltou à consulta e trará você ao centro de saúde para avaliação.

## 9. CUSTOS, NÃO REMUNERAÇÃO E COMPENSAÇÃO

Todo o tratamento para antiofídico será dado a você sem nenhum custo durante o estudo. Portanto, a sua participação neste estudo não terá nenhum custo para você e a sua participação neste estudo não será remunerada.

Caso ocorra algum dano, mencionado ou não neste termo, que tenha sido resultante de sua participação no estudo, nós asseguramos o tratamento e acompanhamento médico necessários, bem como uma eventual indenização.

## 10. CONFIDENCIALIDADE

A garantia de sigilo e privacidade dos seus dados, de acordo com as normas brasileiras, será assegurada.

Toda informação obtida durante este estudo, incluindo os registros médicos, dados pessoais e da pesquisa são confidenciais. A sua identidade pessoal, quer dizer, seu nome, endereço e outros dados, permanecerão sob sigilo, no centro de estudos. A forma de garantir este sigilo será identificá-lo através de um código numérico e data de nascimento. Somente a equipe do estudo será capaz de ligar o código numérico ao nome completo. Durante sua participação neste estudo clínico, seu médico irá coletar dados pessoais e os dados sobre a sua saúde. Estas informações serão guardadas por pelo menos 15 anos.

Você tem o direito de acessar os seus dados junto ao médico do estudo e pedir correções, caso estes estejam errados ou incompletos.

## 11. OUTRAS INFORMAÇÕES RELEVANTES

O Investigador Principal deste estudo é a Pesquisadora Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett e Wuelton Marcelo Monteiro, que podem ser encontrado no seguinte endereço: Av. Pedro Teixeira, 25 – Dom Pedro. Manaus, Amazonas - Brasil – CEP: 69040-000, de segunda a sexta feira das 8h às 12h e telefones (92) 981518086 ou (92) 991652486 (horário comercial e não comercial).

Em qualquer fase do estudo, você terá acesso ao investigador e sua equipe para comunicar sintomas inesperados e não habituais durante o estudo, esclarecer dúvidas ou pedir informações adicionais.

Este estudo foi aprovado por um Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos e está de acordo com as normas nacionais e internacionais para sua realização. Se você tiver alguma dúvida ou quiser alguma informação adicional sobre os seus direitos como participante de pesquisa ou sobre os aspectos éticos do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado no endereço Av. Pedro Teixeira, 25 - Manaus - Amazonas – CEP: 69040-000 e telefone (92) 2127-3572. O CEP funciona de segunda a sexta-feira, de 8h às 14h, sem intervalo de almoço.

1. Eu li ou leram para mim o termo de consentimento livre e esclarecido para esse estudo. Recebi todas as explicações sobre a natureza, objetivo, duração, efeitos e riscos previsíveis do estudo, assim como sobre as minhas responsabilidades. As minhas perguntas foram respondidas satisfatoriamente.
2. Concordo que eu participe desse estudo. Concordo em cooperar totalmente com os pesquisadores do estudo e entrarei em contato com eles imediatamente caso eu apresente quaisquer sintomas inesperados ou não usuais

Página 4 de 6

Rubrica do Participante/ Representante legal: \_\_\_\_\_

Rubrica do(a) pesquisador(a) responsável/delegado(a): 



durante o estudo. Durante o período do estudo, eu informarei sobre quaisquer outros tratamentos médicos que eu possa vir a precisar.

3. Informe-me ao médico do estudo sobre todas as minhas doenças e medicações que eu use, além de informar sobre todas as consultas médicas recentes.
4. Estou ciente de que se não cooperar com os pedidos e as orientações do médico do estudo, eu posso vir a ser prejudicado ao participar deste estudo.
5. Entendo que a minha participação no estudo é voluntária e que eu posso recusar a participar ou sair do estudo a qualquer momento. Caso eu recuse participar deste estudo, não serei penalizado de nenhuma forma e esta decisão não prejudicará qualquer cuidado médico ao qual eu tenha direito. Entendo ainda que quaisquer informações que possam surgir durante a condução do estudo, que possam afetar minha decisão em participar, me serão passadas assim que possível.
6. Representantes do Comitê de Ética em Pesquisa e autoridades regulatórias nacionais e ou internacionais poderão examinar e copiar meus registros médicos para verificar as informações neles coletadas. Ao assinar este documento, autorizo este uso dos meus registros.
7. Receberei uma via assinada deste consentimento.



PÁGINA DE ASSINATURAS

Se você leu este termo de consentimento livre e esclarecido (ou se ele lhe foi explicado), todas as suas perguntas foram respondidas e você concorda em participar deste estudo, favor inserir e assinar seu nome abaixo e rubricar todas as páginas deste termo de consentimento livre e esclarecido. O TCLE também será assinado e todas as páginas do termo também serão rubricadas pelo membro da equipe do estudo que realizou a discussão deste documento com você.

Nome do participante:

Assinatura

Data: / /

Impressão datiloscópica

Nome da testemunha (se houver)

Assinatura

Data: / /

Razão para necessidade da testemunha

Impressão datiloscópica

Confirmo que expliquei pessoalmente a natureza, propósito, duração, efeitos, riscos previsíveis do estudo ao participante acima mencionado.

Nome do profissional:

Assinatura do profissional:

Data:

## d. ANEXO IV – Termo de Assentimento



### TALE - TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Título do Estudo: Avaliação do perfil clínico-inflamatório dos acidentes botrópicos - SNAKEBIO**

**PESQUISADOR PRINCIPAL: Dra. Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett**  
**Centro de pesquisa: Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado**  
**TELEFONE: (092) 2127-3598**

Por favor leia estas informações com atenção. Tome o tempo necessário para fazer as perguntas que você quiser. A equipe do estudo explicará qualquer palavra ou informação que você não entenda claramente.

#### 1. INTRODUÇÃO

Seu filho está sendo convidado para participar de um estudo clínico porque ele foi diagnosticado com acidente ofídico. A equipe que conduz o estudo acha que seu filho tem as condições iniciais para poder participar do estudo. Antes de concordar que seu filho participe do estudo, é muito importante que você entenda as informações fornecidas neste documento e quais serão as implicações para seu filho durante o período do estudo. Este termo descreve o objetivo, os procedimentos, os benefícios, os riscos, os desconfortos e as precauções do estudo. Descreve também os procedimentos alternativos que estão disponíveis para seu filho e seu direito para se retirar do estudo a qualquer momento. Caso você concorde e assine este documento, uma cópia ficará conosco e a outra cópia será sua.

Você deve ser bem sincero com seu médico a respeito do histórico de saúde de seu filho, incluindo o uso anterior e atual de outras medicações. Caso contrário, seu filho poderá ser prejudicado ao participar desse estudo.

Se não puder ler ou escrever, uma testemunha, que é uma pessoa independente, do patrocinador e do médico lerá este documento para você. Se concordar com a participação de seu filho, sua impressão digital (carimbo do seu dedo polegar) substituirá a sua assinatura.

#### 2. DESCRIÇÃO DO ESTUDO

Este estudo clínico será realizado na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMTHVD), que é um centro de saúde em Manaus (AM) que há muitos anos trata pessoas com acidente ofídico. Neste estudo serão acompanhadas aproximadamente 500 pacientes com mais de 10 anos de idade e este Termo se refere aos pacientes de 10 a 17 anos.

Se você concordar que seu filho participe desse estudo e se ele tiver as condições para ser selecionado, ele será acompanhado pela equipe de pesquisadores por 7 dias consecutivos a partir da data do acidente.

Página 1 de 6

Rubrica do Participante/ Representante legal: \_\_\_\_\_ Rubrica do(a) pesquisador(a) responsável/delegado(a): \_\_\_\_\_



### 3. PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Se você concordar com a participação de seu filho no estudo, o médico realizará um exame físico, coleta de amostras de sangue, verificará o histórico médico, bem como uso de medicações anteriores e atuais.

#### 3.1 Visitas

Nos 3 primeiros dias, seu filho deverá permanecer internado para realizar exames diários para avaliação do envenenamento ofídico.

A partir daí, ele deverá ser atendido pela equipe do estudo no 7º dia apenas no retorno ambulatorial.

Em cada visita, será realizado um exame clínico e físico. Em todas as visitas, uma pequena quantidade de sangue será retirada por meio de uma punção venosa e será coletada e guardada para análises complementares.

A equipe buscará reduzir a uma coleta de sangue por visita e sempre conversará com o senhor sobre isso. Todos os resultados desses exames serão comunicados a você e permanecerão confidenciais.

#### 3.2 Exame Físico e Avaliação física

O seu filho passará por um exame físico na inclusão do estudo, incluindo medir temperatura corporal, frequência da respiração, frequência do coração e a pressão do sangue do seu filho. Faremos medição de altura, peso, perímetro cefálico, otoscopia, oroscopia, inspeção geral e avaliação do local da picada. Essa avaliação será feita na admissão, durante a internação e nos atendimentos ambulatoriais (7º dia) e em qualquer momento que ele tenha algum sintoma durante o acompanhamento

#### 3.3 Coleta de sangue

O sangue será coletado para realização de diferentes exames nos dias: 0, 1º, 2º, 3º e 7º de acompanhamento.

Vamos coletar 20 mL de sangue do braço (um pouco mais que uma colher de sopa), dependendo da idade e peso de seu filho. Esses exames incluem testes para identificação do veneno e para saber sobre a sua saúde. Também vamos guardar um pouco do seu sangue para fazer exames depois e saber mais sobre o envenenamento.

#### 3.4 Coleta de secreção do local da picada

No local da picada podem ocorrer bolhas com secreção e infecção local, neste caso, seria necessário a coleta do material para estudar a presença de veneno e de bactérias que fizeram a complicação local ocorrer. Os exames destas secreções ajudarão a entender o processo de gravidade local e saber qual a melhor forma de prevenir e tratar estes sinais e sintomas.

Por favor, informe abaixo se você concorda ou não, marcando com X uma das opções. Se decidir que não, não tem problema. Seu filho poderá continuar no estudo mesmo assim e não perguntaremos mais sobre isso.

Sim, concordo

Não, não concordo

Atenção: Esses exames não atrasarão o início do tratamento da doença.



#### 4. RISCOS OU INCONVENIÊNCIAS RAZOAVELMENTE PREVISÍVEIS

Os riscos deste estudo são, basicamente, os possíveis eventos indesejados dos procedimentos médicos como, por exemplo, o incômodo ao realizar a coleta de sangue.

Coleta de sangue: os riscos de coletar sangue são muito pequenos e podem incluir tonturas, dor, manchas arroxeadas ou infecção. Seu filho pode ter uma pequena dor durante a introdução da agulha.

#### 5. BENEFÍCIOS RAZOAVELMENTE ESPERADOS

Esse estudo clínico oferece benefício individual direto para os participantes porque os procedimentos realizados ajudarão a determinar um perfil clínico-epidemiológico-inflamatório dos acidentes botrópicos. Os exames laboratoriais realizados permitirão ao médico do estudo determinar a evolução do seu filho para melhorar ou não sua saúde e ele será monitorado de perto por 7 dias.

Além disso, você deverá retornar à clínica para futuras avaliações e/ou tratamentos se seu filho estiver ainda com sintomas do acidente ofídico.

A participação de seu filho nos ajudará a entender melhor o envenenamento ofídico e atingir os objetivos do estudo. A sua comunidade também poderá se beneficiar dos resultados deste estudo no futuro.

#### 6. PROCEDIMENTOS OU TRATAMENTOS ALTERNATIVOS

Mesmo se você decidir que seu filho não deve participar do estudo, ele receberá um tratamento adequado. Se tiver dúvidas a respeito das alternativas de tratamento, favor fazer as suas perguntas ao seu médico do estudo. Você e seu médico podem decidir qual o melhor tratamento para seu filho.

#### 7. PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA NO ESTUDO – RETIRADA DO ESTUDO

A participação de seu filho neste estudo é totalmente voluntária. Você tem o direito de retirar a participação dele a qualquer momento e por qualquer razão. Recusar-se a participar ou descontinuar o estudo não afetará a assistência médica ao seu filho ou perda de benefícios aos quais ele tenha direito de outra forma. A recusa não afetará sua relação com o seu médico.

A participação dele neste estudo será interrompida pelos motivos a seguir, você concorde ou não:

- Se seu filho não seguir os procedimentos do estudo,
- Se, na opinião do médico do estudo, for o melhor para seu filho,
- Se as autoridades regulatórias responsáveis ou o Comitê de Ética decidir encerrar o estudo.

Antes da participação de seu filho no estudo clínico, o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido deve ser pessoalmente assinado e datado por você, ou por uma testemunha imparcial, se você não puder ler ou escrever (neste caso você fornece sua digital) e pela pessoa que conversou sobre o consentimento livre e esclarecido. Se seu filho for capaz de entender esse estudo, ele/ela deverá assinar o termo de assentimento após ler (ou ouvir quando o documento for lido) ou, se não souber ler, deve imprimir a digital.

Antes de assinar esse termo (ou deixar sua impressão digital como assinatura), você deverá fazer todas as perguntas que tiver sobre o que você não entendeu. A equipe responsável pelo estudo responderá suas perguntas.



Você receberá uma via deste Termo de Assentimento Livre e Esclarecido e poderá solicitar informações adicionais a qualquer momento durante o estudo, do médico no centro ou poderá entrar em contato no número de telefone que está neste termo.

#### **8. RESPONSABILIDADES DO PACIENTE/RECOMENDAÇÕES PRÁTICAS**

A partir do primeiro dia e até o final do estudo, seu filho não deverá tomar qualquer outra medicação sem conversar antes com o médico. Se atualmente ele estiver tomando outros medicamentos é importante que você informe ao médico.

Se seu filho faltar a uma consulta, uma pessoa do centro de saúde entrará em contato para verificar porque ele faltou à consulta e trará você e seu filho ao centro de saúde para avaliação.

#### **9. CUSTOS, NÃO REMUNERAÇÃO E COMPENSAÇÃO**

Todo o tratamento para antiofídico será dado a você sem nenhum custo durante o estudo. Portanto, a participação de seu filho neste estudo não terá nenhum custo para você e a participação de seu filho neste estudo não será remunerada.

Caso ocorra algum dano, mencionado ou não neste termo, que tenha sido resultante de sua participação no estudo, nós asseguramos o tratamento e acompanhamento médico necessários, bem como uma eventual indenização.

#### **10. CONFIDENCIALIDADE**

A garantia de sigilo e privacidade dos dados de seu filho, de acordo com as normas brasileiras, será assegurada. Toda informação obtida durante este estudo, incluindo os registros médicos, dados pessoais e da pesquisa são confidenciais. A identidade pessoal de seu filho, quer dizer, seu nome, endereço e outros dados, permanecerá sob sigilo, no centro de estudos. A forma de garantir este sigilo será identificá-lo através de um código numérico e data de nascimento. Somente a equipe do estudo será capaz de ligar o código numérico ao nome completo. Durante sua participação neste estudo clínico, seu médico irá coletar dados pessoais e os dados sobre a saúde de seu filho. Estas informações serão guardadas por pelo menos 15 anos.

Você tem o direito de acessar os dados de seu filho junto ao médico do estudo e pedir correções, caso estejam errados ou incompletos.

#### **11. OUTRAS INFORMAÇÕES RELEVANTES**

O Investigador Principal deste estudo é a Pesquisadora Jacqueline de Almeida Gonçalves Sachett e Wuelton Marcelo Monteiro, que podem ser encontrados no seguinte endereço: Av. Pedro Teixeira, 25 – Dom Pedro, Manaus, Amazonas - Brasil – CEP: 69040-000, de segunda a sexta feira das 8h às 12h e telefones (92) 981518086 ou (92) 991652486 (horário comercial e não comercial).

Em qualquer fase do estudo, você terá acesso ao investigador e sua equipe para comunicar sintomas inesperados e não habituais durante o estudo, esclarecer dúvidas ou pedir informações adicionais.

Este estudo foi aprovado por um Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos e está de acordo com as normas nacionais e internacionais para sua realização. Se você tiver alguma dúvida ou quiser alguma informação adicional sobre os direitos de seu filho como participante de pesquisa ou sobre os aspectos éticos do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado no endereço Av. Pedro Teixeira, 25 -



Manaus - Amazonas – CEP: 69040-000 e telefone (92) 2127-3572. O CEP funciona de segunda a sexta-feira, de 8h às 14h, sem intervalo para almoço.

1. Eu li ou leram para mim o termo de assentimento livre e esclarecido para esse estudo. Recebi todas as explicações sobre a natureza, objetivo, duração, efeitos e riscos previsíveis do estudo, assim como sobre as minhas responsabilidades. As minhas perguntas foram respondidas satisfatoriamente.
2. Concordo que meu filho participe desse estudo. Concordo em cooperar totalmente com os pesquisadores do estudo e entrarei em contato com eles imediatamente caso meu filho apresente quaisquer sintomas inesperados ou não usuais durante o estudo. Durante o período do estudo, eu informarei sobre quaisquer outros tratamentos médicos que meu filho possa vir a precisar.
3. Informe ao médico do estudo sobre todas as doenças de meu filho e medicações que ele usa, além de informar sobre todas as consultas médicas recentes.
4. Informe também ao médico do estudo sobre qualquer participação de meu filho em outros estudos clínicos no último ano.
5. Estou ciente de que se não cooperar com os pedidos e as orientações do médico do estudo, meu filho pode vir a se prejudicar ao participar deste estudo.
6. Entendo que a participação de meu filho no estudo é voluntária e que ele/ela pode recusar a participar ou sair do estudo a qualquer momento. Caso ele recuse participar deste estudo, não será penalizado de nenhuma forma e esta decisão não prejudicará qualquer cuidado médico ao qual meu filho tenha direito. Entendo ainda que quaisquer informações que possam surgir durante a condução do estudo, que possam afetar minha decisão em meu filho participar, me serão passadas assim que possível.
7. Representantes do Comitê de Ética em Pesquisa e autoridades regulatórias nacionais e ou internacionais poderão examinar e copiar registros médicos de meu filho para verificar as informações neles coletadas. Ao assinar este documento, autorizo este uso dos registros de meu filho.
8. Receberei uma via assinada deste consentimento.



PÁGINA DE ASSINATURAS

Se você leu este termo de assentimento livre e esclarecido (ou se ele lhe foi explicado), todas as suas perguntas foram respondidas e você concorda em participar deste estudo, favor inserir e assinar seu nome abaixo e rubricar todas as páginas deste termo de assentimento livre e esclarecido. O TALE também será assinado e todas as páginas do termo também serão rubricadas pelo membro da equipe do estudo que realizou a discussão deste documento com você.

Nome do participante

Assinatura

Data: / /

Impressão datiloscópica

Nome do pai ou responsável:

Assinatura

Data: / /

Impressão datiloscópica

Nome da testemunha (se houver)

Assinatura

Data: / /

Razão para necessidade da testemunha:

Impressão datiloscópica

Confirmo que expliquei pessoalmente a natureza, propósito, duração, efeitos, riscos previsíveis do estudo ao participante acima mencionado.

Nome do profissional:

Assinatura do profissional

Data:

Página 6 de 6

Rubrica do Participante/ Representante legal: \_\_\_\_\_ Rubrica do(a) pesquisador(a) responsável/delegado(a): \_\_\_\_\_

## e. ANEXO V- Formulário de Registro Clínico

1

Anexo:

**Formulário de Registro Clínico - CRF****“Avaliação do perfil clínico-inflamatório dos acidentes botrópicos na  
Amazônia Brasileira - SNAKEBIO”****Prontuário:****Nome:****Cod. Estudo:****Pesquisadores Responsáveis:** Jacqueline A. G. Sachett **Contato:** (92) 8151-8086

<b>1. Dados do paciente</b>	
1.1 Contato telefônico: ( ) _____ ( ) _____	
1.2 Endereço: _____ n° _____ Bairro: _____	
1.3 Município: _____	
1.4 Sexo: <input type="checkbox"/> 1-Masculino    2-Feminino	
1.5 Data de nascimento ____/____/____	1.6 Idade: <input type="text"/> <input type="text"/>

<b>2. Dados do acidente ofídico</b>	
2.1 Procedência: <input type="checkbox"/> 1-Manaus    2-Interior Qual? _____	
2.2 Data do Acidente: ____/____/____	2.3 Hora Aproximada do Acidente: ____:____
2.4 Data da internação na FMT-HVD: ____/____/____	2.5 Hora da Admissão: ____:____
2.6 Data da saída na FMT-HVD: ____/____/____	
2.7 Motivo: <input type="checkbox"/> 1-Alta    2-Óbito    3-Transferência	
2.8 Zona de Ocorrência: <input type="checkbox"/> 1-Rural    2-Urbana    3-Periurbana    9-Ignorado	
2.9 Local da picada: <input type="checkbox"/> 1-Cabeça    2-Braço    3-Perna    4-Tronco    5-Pescoço    6-Mão 7-Coxa    8-Antebraco    9-Pé    10-Outro (Espec.): _____	
2.10 Lado do corpo afetado: <input type="checkbox"/> 1-Direito    2-Esquerdo    3-Central	
2.11 Andou ou caminhou após acidente: <input type="checkbox"/> 1-Não    2-Sim. Quanto tempo? ____ min.	
2.12 Acidente relacionado ao trabalho: <input type="checkbox"/> 1-Não    2-Sim	
2.13 Houve acidente anterior: <input type="checkbox"/> 1-Não    2-Sim. Quantos? _____ Data do último: ____/____ (mês/ano)	

Assinatura e Carimbo: \_\_\_\_\_

<b>3. Soroterapia – Classificação do Acidente ofídico</b>	
3.1 Tipo do acidente <input type="checkbox"/> 1-Bothrópico 2-Laquéético 3-Não identificado	
3.2 Classificação do acidente ( <u>vide tabela abaixo</u> ): <input type="checkbox"/> 1-Leve 2-Moderado 3-Grave	
<b>Classificação do Acidente e Soroterapia (*antes de iniciar soroterapia coletar sangue conforme POP – coleta sanguínea):</b>	
<b>Bothrópico</b>	
<b>Leve:</b> quadro local discreto (edema local de até 2 segmentos), sangramento em pele ou mucosas; pode haver apenas distúrbio na coagulação. <b>Soro:</b> Antibotrópico (SAB)	2 a 4 ampolas
<b>Moderado:</b> edema (edema local de 3 a 4 segmentos) e equimose evidentes, sangramento sem comprometimento do estado geral; pode haver distúrbio na coagulação. <b>Soro:</b> Antibotrópico (SAB)	5 a 8 ampolas
<b>Grave:</b> alterações locais intensas (edema local de 5 segmentos), hemorragia grave, hipotensão, anúria. <b>Soro:</b> Antibotrópico (SAB)	12 ampolas
<b>Laquéético</b>	
<b>Moderado:</b> quadro local presente (Idem Bothropico), pode haver sangramentos, manifestações vagas leves (PA > 80x40mmHg e Pulso acima de 50bpm) <b>Soro:</b> Antibotrópico-laquéético (SABL)	10 ampolas
<b>Grave:</b> quadro local intenso (Idem Bothropico), hemorragia intensa, com manifestações vagas (PA < 80x40mmHg e Pulso abaixo de 50bpm) <b>Soro:</b> Antibotrópico-laquéético (SABL)	20 ampolas
3.3 Hora da Soroterapia: ____:____	
3.4 Reação Adversa à Soroterapia (até 24 horas após infusão): 1-Não 2-Sim	
<input type="checkbox"/> taquicardia <input type="checkbox"/> taquipneia <input type="checkbox"/> dispneia <input type="checkbox"/> urticária <input type="checkbox"/> náuseas <input type="checkbox"/> vômitos <input type="checkbox"/> hipotensão <input type="checkbox"/> prurido <input type="checkbox"/> choque <input type="checkbox"/> broncoespasmo <input type="checkbox"/> rouquidão e estridor laríngeo <input type="checkbox"/> reação anafilática <input type="checkbox"/> outra: _____	
3.5 Hora da Reação Adversa: ____:____	

Assinatura e Carimbo: \_\_\_\_\_

<b>4. Histórico – T0 (0 horas)</b>		
4.1 Houve medicamentos orais/injetáveis anteriores a internação:		
<input type="checkbox"/> 1-Não 2-Sim (Espec.): _____		
4.2 Houve uso de produtos no local do acidente:		
<input type="checkbox"/> 1-Não 2-Sim (Espec.): _____		
4.3 Condutas adotadas após o acidente 1-Não 2-Sim		
<input type="checkbox"/> Torniquete/garrote <input type="checkbox"/> Sucção Labial <input type="checkbox"/> Outro: _____		
<b>5. Dados clínicos do paciente</b>		
5.1 Data da avaliação: [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]		5.2 Hora: [ ]:[ ]:
5.3 Pressão arterial [ ][ ][ ]/[ ][ ][ ] mm Hg		5.4 Pulso [ ][ ][ ] por min
5.5 Peso corporal [ ][ ] kg		5.6 Temp. [ ][ ][ ][ ] °C
		5.7 Freq. Resp. [ ][ ][ ] rpm
5.8 Doenças, Tratamentos ou Queixas concomitantes 1-Não 2-Sim		
<input type="checkbox"/> Doenças Hematológicas <input type="checkbox"/> Uso de anticoncepcional		
<input type="checkbox"/> Uso de anticoagulante <input type="checkbox"/> Outro: _____		
5.9 Manifestações Locais: 1-Não 2-Sim		
5.9.1 Sangramento <input type="checkbox"/> sangramento em pele ou mucosas		
<input type="checkbox"/> equimose evidentes		
<input type="checkbox"/> sangramento sem comprometimento do estado geral		
5.9.2 Edema <input type="checkbox"/> Leve - edema local de até 2 segmentos		
<input type="checkbox"/> Moderado - edema local de 3 a 4 segmentos		
<input type="checkbox"/> Grave - edema local de 5 segmentos		
- Circunferência da região acometida (Centímetros)		
Lado direito: _____ cm      Lado esquerdo: _____ cm      região ímpar: _____ cm		
Extensão do edema: _____ cm*		
* marcar na figura o edema tanto no sentido distal quanto proximal do local da picada (marcar com P - local da picada)		

5.9.3 Linfonodos	<input type="checkbox"/> ausente	<input type="checkbox"/> presente	Tamanho (cm): _____
Consistência	<input type="checkbox"/> elástica	<input type="checkbox"/> pétreia	<input type="checkbox"/> amolecida
Sensibilidade	<input type="checkbox"/> doloroso	<input type="checkbox"/> indolor	
Mobilidade	<input type="checkbox"/> aderido a planos profundos	<input type="checkbox"/> não aderido (móvel)	
5.9.4 Dor - <b>classificação numérica na escala de 0 - 10</b>			
Valor*:	<input type="checkbox"/>	Ausente: 0	Leve: 1-3    Moderado: 4-7    Grave: 8-10
* Antes do uso de analgésico			
5.9.5 Tonalidade Perilesional:    1-Não    2-Sim			
<input type="checkbox"/> normal	<input type="checkbox"/> violácia	<input type="checkbox"/> vermelhidão	<input type="checkbox"/> necrótica (enegrecida)
5.9.6 Características da Pele:    1-Não    2-Sim			
<input type="checkbox"/> equimose	<input type="checkbox"/> bolhas	<input type="checkbox"/> secreção serosa	<input type="checkbox"/> somente a marca da presa
5.9.7 Temperatura: Área acometida _____°C		5.9.8 Área contralateral _____°C	

5.10 Manifestações Sistêmicas:    1-Não    2-Sim, marcar um X				
<input type="checkbox"/> Anúria	<input type="checkbox"/> Cefaleia	<input type="checkbox"/> Choque	<input type="checkbox"/> Cólicas abdominais	<input type="checkbox"/> Convulsão
<input type="checkbox"/> Diarreia	<input type="checkbox"/> Enterorragia(melena e hematoquesia)		<input type="checkbox"/> Epistaxe	
<input type="checkbox"/> Equimose	<input type="checkbox"/> Gengivorragia	<input type="checkbox"/> Hematêmese	<input type="checkbox"/> Hematúria	
<input type="checkbox"/> Hemoptise	<input type="checkbox"/> Hemorragia conjuntival	<input type="checkbox"/> Hipermenorragia	<input type="checkbox"/> Náuseas	
<input type="checkbox"/> Oligúria	<input type="checkbox"/> Otorragia	<input type="checkbox"/> Petéquias	<input type="checkbox"/> Sudorese	<input type="checkbox"/> Vômito
<input type="checkbox"/> Outras: _____				

Assinatura e Carimbo: \_\_\_\_\_

<b>6. Tratamento/medicação concomitante</b> (até o final do tratamento)					
<b>6.1 Data:</b> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>					
<b>6.2 Medicamentos concomitantes?</b> <input type="checkbox"/> 1-Não 2-Sim – Especifique:					
Marca / Nome genérico	Via/formul.	Regime	Indicação	Data de início	Data de término
.....	.....	.....	.....	<input type="text"/>	<input type="text"/>
.....	.....	.....	.....	<input type="text"/>	<input type="text"/>
.....	.....	.....	.....	<input type="text"/>	<input type="text"/>
.....	.....	.....	.....	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Assinatura e Carimbo: \_\_\_\_\_

<b>7. Dados da serpente</b>	
<b>7.1 Trouxe a serpente:</b> <input type="checkbox"/> 1-Não 2-Sim	
<b>INFORMAÇÕES ABAIXO SERÃO INFORMADAS PELA GERÊNCIA DE ANIMAIS PEÇONHENTOS</b>	
<b>7.2 Serpente envolvida:</b> <input type="checkbox"/> 1- <i>Bothrops</i> 2- <i>Lachesis</i> 9-Ignorado 3-Outro (Espec.): _____	
<b>7.3 Sexo da serpente:</b> <input type="checkbox"/> 1-Masculino 2-Feminino	
<b>7.4 Idade da serpente:</b> _____	<b>7.5 Tamanho da serpente:</b> _____ cm.

<b>8. Histórico – T24 (24 horas)</b>		
<b>8.1 Houve medicamentos orais/injetáveis anteriores a internação:</b>		
<input type="checkbox"/> 1-Não 2-Sim (Espec.): _____		
<b>8.2 Houve uso de produtos no local do acidente:</b>		
<input type="checkbox"/> 1-Não 2-Sim (Espec.): _____		
<b>8.3 Condutas adotadas após o acidente</b> 1-Não 2-Sim		
<input type="checkbox"/> Torniquete/garrote <input type="checkbox"/> Sucção Labial <input type="checkbox"/> Outro: _____		
<b>9. Dados clínicos do paciente</b>		
<b>9.1 Data da avaliação:</b> [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]		<b>9.2 Hora:</b> [ ]:[ ]
<b>9.3 Pressão arterial</b> [ ][ ][ ]/[ ][ ][ ] mm Hg		<b>9.4 Pulso</b> [ ][ ][ ] por min
<b>9.5 Peso corporal</b> [ ][ ] kg		<b>9.6 Temp.</b> [ ][ ][ ][ ] °C
		<b>9.7 Freq. Resp.</b> [ ][ ][ ] rpm
<b>9.8 Doenças, Tratamentos ou Queixas concomitantes</b> 1-Não 2-Sim		
<input type="checkbox"/> Doenças Hematológicas <input type="checkbox"/> Uso de anticoncepcional		
<input type="checkbox"/> Uso de anticoagulante <input type="checkbox"/> Outro: _____		
<b>9.9 Manifestações Locais:</b> 1-Não 2-Sim		
<b>9.9.1 Sangramento</b> <input type="checkbox"/> sangramento em pele ou mucosas		
<input type="checkbox"/> equimose evidentes		
<input type="checkbox"/> sangramento sem comprometimento do estado geral		
<b>9.9.2 Edema</b> <input type="checkbox"/> Leve - edema local de até 2 segmentos		
<input type="checkbox"/> Moderado - edema local de 3 a 4 segmentos		
<input type="checkbox"/> Grave - edema local de 5 segmentos		
- Circunferência da região acometida (Centímetros)		
Lado direito: _____ cm		Lado esquerdo: _____ cm
		região ímpar: _____ cm
Extensão do edema: _____ cm*		
* marcar na figura o edema tanto no sentido distal quanto proximal do local da picada (marcar com P - local da picada)		

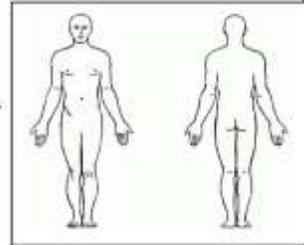
9.9.3 Linfonodos	<input type="checkbox"/> ausente	<input type="checkbox"/> presente	Tamanho (cm): _____
Consistência	<input type="checkbox"/> elástica	<input type="checkbox"/> pétreia	<input type="checkbox"/> amolecida
Sensibilidade	<input type="checkbox"/> doloroso	<input type="checkbox"/> indolor	
Mobilidade	<input type="checkbox"/> aderido a planos profundos	<input type="checkbox"/> não aderido (móvel)	
9.9.4 Dor - <b>classificação numérica na escala de 0 - 10</b>			
Valor*:	<input type="checkbox"/>	Ausente: 0	Leve: 1-3    Moderado: 4-7    Grave: 8-10
* Antes do uso de analgésico			
9.9.5 Tonalidade Perilesional:    1-Não    2-Sim			
<input type="checkbox"/> normal	<input type="checkbox"/> violácia	<input type="checkbox"/> vermelhidão	<input type="checkbox"/> necrótica (enegrecida)
9.9.6 Características da Pele:    1-Não    2-Sim			
<input type="checkbox"/> equimose	<input type="checkbox"/> bolhas	<input type="checkbox"/> secreção serosa	<input type="checkbox"/> somente a marca da presa
9.9.7 Temperatura: Área acometida _____°C		9.9.8 Área contralateral _____°C	

9.10 Manifestações Sistêmicas:    1-Não    2-Sim, marcar um X				
<input type="checkbox"/> Anúria	<input type="checkbox"/> Cefaleia	<input type="checkbox"/> Choque	<input type="checkbox"/> Cólicas abdominais	<input type="checkbox"/> Convulsão
<input type="checkbox"/> Diarreia	<input type="checkbox"/> Enterorragia(melena e hematoquesia)		<input type="checkbox"/> Epistaxe	
<input type="checkbox"/> Equimose	<input type="checkbox"/> Gengivorragia	<input type="checkbox"/> Hematêmese	<input type="checkbox"/> Hematúria	
<input type="checkbox"/> Hemoptise	<input type="checkbox"/> Hemorragia conjuntival	<input type="checkbox"/> Hipermenorragia	<input type="checkbox"/> Náuseas	
<input type="checkbox"/> Oligúria	<input type="checkbox"/> Otorragia	<input type="checkbox"/> Petéquias	<input type="checkbox"/> Sudorese	<input type="checkbox"/> Vômito
<input type="checkbox"/> Outras: _____				

Assinatura e Carimbo: \_\_\_\_\_

**Fotodocumentação:** Favor tirar uma foto da lesão antes da retirada da amostra para exame.

<b>10. Dados clínicos do paciente – T48 (48 horas)</b>	
10.1 Data da avaliação: <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>	10.2 Hora: <input type="text"/> : <input type="text"/> : <input type="text"/>
10.3 Pressão arterial <input type="text"/> / <input type="text"/> mm Hg	10.4 Pulso <input type="text"/> por min
10.5 Temp. <input type="text"/> °C	10.6 Freq. Resp. <input type="text"/> rpm
<b>10.7 Queixas concomitantes</b>	
<input type="checkbox"/> 1-Não 2-Sim (Espec.): _____	
<b>10.8 Manifestações Locais:</b> 1-Não 2-Sim	
10.8.1 <b>Sangramento</b> <input type="checkbox"/> sangramento em pele ou mucosas	
<input type="checkbox"/> equimose evidentes	
<input type="checkbox"/> sangramento sem comprometimento do estado geral	
10.8.2 <b>Edema</b> <input type="checkbox"/> Leve - edema local de até 2 segmentos	
<input type="checkbox"/> Moderado - edema local de 3 a 4 segmentos	
<input type="checkbox"/> Grave - edema local de 5 segmentos	
- Circunferência da região acometida (Centímetros)	
Lado direito: _____ cm	Lado esquerdo: _____ cm região ímpar: _____ cm
Extensão do edema: _____ cm*	
* marcar na figura o edema tanto no sentido distal quanto proximal do local da picada (marcar com P - local da picada)	
10.8.3 <b>Linfonodos</b> <input type="checkbox"/> ausente <input type="checkbox"/> presente Tamanho (cm): _____	
Consistência <input type="checkbox"/> elástica <input type="checkbox"/> pétreo <input type="checkbox"/> amolecida	
Sensibilidade <input type="checkbox"/> doloroso <input type="checkbox"/> indolor	
Mobilidade <input type="checkbox"/> aderido a planos profundos <input type="checkbox"/> não aderido (móvel)	
10.8.4 <b>Dor - classificação numérica na escala de 0 - 10</b>	
Valor*: <input type="checkbox"/> Ausente: 0 Leve: 1-3 Moderado: 4-7 Grave: 8-10	
* Após uso de analgésico	



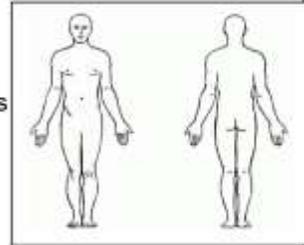
10.8.5 <b>Tonalidade Perilesional:</b> 1-Não 2-Sim	
<input type="checkbox"/> normal	<input type="checkbox"/> violácia <input type="checkbox"/> vermelhidão <input type="checkbox"/> necrótica (enegrecida)
10.8.6 <b>Características da Pele:</b> 1-Não 2-Sim	
<input type="checkbox"/> equimose	<input type="checkbox"/> bolhas <input type="checkbox"/> secreção serosa <input type="checkbox"/> somente a marca da presa
10.8.7 Temperatura: Área acometida _____°C	10.8.8 Área contralateral _____°C

10.9 <b>Manifestações Sistêmicas:</b> 1-Não 2-Sim, marcar um X	
<input type="checkbox"/> Anúria	<input type="checkbox"/> Cefaleia <input type="checkbox"/> Choque <input type="checkbox"/> Cólicas abdominais <input type="checkbox"/> Convulsão
<input type="checkbox"/> Diarreia	<input type="checkbox"/> Enterorragia(melena e hematoquesia) <input type="checkbox"/> Epistaxe
<input type="checkbox"/> Equimose	<input type="checkbox"/> Gengivorragia <input type="checkbox"/> Hematêmese <input type="checkbox"/> Hematúria
<input type="checkbox"/> Hemoptise	<input type="checkbox"/> Hemorragia conjuntival <input type="checkbox"/> Hipermenorragia <input type="checkbox"/> Náuseas
<input type="checkbox"/> Oligúria	<input type="checkbox"/> Otorragia <input type="checkbox"/> Petéquias <input type="checkbox"/> Sudorese <input type="checkbox"/> Vômito
<input type="checkbox"/> Outras: _____	

Assinatura e Carimbo: \_\_\_\_\_

***Fotodocumentação: Favor tirar uma foto da lesão antes da retirada da amostra para exame.***

<b>11. Dados clínicos do paciente – T72 (72 horas)</b>	
11.1 Data da avaliação: <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>	11.2 Hora: <input type="text"/> : <input type="text"/>
11.3 Pressão arterial <input type="text"/> / <input type="text"/> mm Hg	11.4 Pulso <input type="text"/> por min
11.5 Temp. <input type="text"/> °C	11.6 Freq. Resp. <input type="text"/> rpm
<b>11.7 Queixas concomitantes</b>	
<input type="checkbox"/> 1-Não 2-Sim (Espec.): _____	
<b>11.8 Manifestações Locais:</b> 1-Não 2-Sim	
11.8.1 <b>Sangramento</b> <input type="checkbox"/> sangramento em pele ou mucosas	
<input type="checkbox"/> equimose evidentes	
<input type="checkbox"/> sangramento sem comprometimento do estado geral	
11.8.2 <b>Edema</b> <input type="checkbox"/> Leve - edema local de até 2 segmentos	
<input type="checkbox"/> Moderado - edema local de 3 a 4 segmentos	
<input type="checkbox"/> Grave - edema local de 5 segmentos	
- Circunferência da região acometida (Centímetros)	
Lado direito: <input type="text"/> cm	Lado esquerdo: <input type="text"/> cm região ímpar: <input type="text"/> cm
Extensão do edema: <input type="text"/> cm*	
* marcar na figura o edema tanto no sentido distal quanto proximal do local da picada (marcar com P - local da picada)	
11.8.3 <b>Linfonodos</b> <input type="checkbox"/> ausente <input type="checkbox"/> presente Tamanho (cm): <input type="text"/>	
Consistência <input type="checkbox"/> elástica <input type="checkbox"/> pétreo <input type="checkbox"/> amolecida	
Sensibilidade <input type="checkbox"/> doloroso <input type="checkbox"/> indolor	
Mobilidade <input type="checkbox"/> aderido a planos profundos <input type="checkbox"/> não aderido (móvel)	
11.8.4 <b>Dor - classificação numérica na escala de 0 - 10</b>	
Valor*: <input type="text"/> Ausente: 0 Leve: 1-3 Moderado: 4-7 Grave: 8-10	
* Após uso de analgésico	



11.8.5 Tonalidade Perilesional: 1-Não 2-Sim	
<input type="checkbox"/> normal	<input type="checkbox"/> violácia <input type="checkbox"/> vermelhidão <input type="checkbox"/> necrótica (enegrecida)
11.8.6 Características da Pele: 1-Não 2-Sim	
<input type="checkbox"/> equimose	<input type="checkbox"/> bolhas <input type="checkbox"/> secreção serosa <input type="checkbox"/> somente a marca da presa
11.8.7 Temperatura: Área acometida ____°C	11.8.8 Área contralateral ____°C

11.9 Manifestações Sistêmicas: 1-Não 2-Sim, marcar um X	
<input type="checkbox"/> Anúria	<input type="checkbox"/> Cefaleia <input type="checkbox"/> Choque <input type="checkbox"/> Cólicas abdominais <input type="checkbox"/> Convulsão
<input type="checkbox"/> Diarreia	<input type="checkbox"/> Enterorragia(melena e hematoquesia) <input type="checkbox"/> Epistaxe
<input type="checkbox"/> Equimose	<input type="checkbox"/> Gengivorragia <input type="checkbox"/> Hematêmese <input type="checkbox"/> Hematúria
<input type="checkbox"/> Hemoptise	<input type="checkbox"/> Hemorragia conjuntival <input type="checkbox"/> Hipermenorragia <input type="checkbox"/> Náuseas
<input type="checkbox"/> Oligúria	<input type="checkbox"/> Otorragia <input type="checkbox"/> Petéquias <input type="checkbox"/> Sudorese <input type="checkbox"/> Vômito
<input type="checkbox"/> Outras: _____	

Assinatura e Carimbo: \_\_\_\_\_

<b>12. Dados da lesão do acidente ofídico</b>	
12.1 Infecção Secundária ao Acidente Ofídico: <input type="checkbox"/> 1-Não 2-Sim	
12.2 Data do diagnóstico: ____/____/____	12.3 Hora: ____:____
12.4 Manifestações Locais: 1-Não 2-Sim	
<input type="checkbox"/> celulite	<input type="checkbox"/> abscesso <input type="checkbox"/> Outro (Espec.): _____
12.5 Antibioticoterapia: _____	Posologia: _____

**Fotodocumentação:** Favor tirar uma foto da lesão antes da retirada da amostra para exame.

Assinatura e Carimbo: \_\_\_\_\_

## 14. Exames Laboratoriais

### 14.1 Sangue

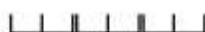
	DADOS	T0	T24	T48	T72	D7	UN.	REF.
ERITROGRAMA	HEMÁCIAS						milhões/mm <sup>3</sup>	4,7 A 6,1
	HEMOGLOBINA						G/DL	13,0 A 16,0
	HEMATÓCRITO						%	40,0 A 52,0
	M.C.V.						FL	80 A 97
	M.C.H.						PG	27,0 A 31,0
	M.C.H.C						G/DL	33,0 A 37,0
	R.D.W.						%	11,5 A 14,5%
LEUCOGRAMA	LEUCÓCITOS						/ mm <sup>3</sup>	4.000-10.300
	SEGMENTADOS						%/ mm <sup>3</sup>	42,1 A 75,2
	MIELÓCITOS						%/ mm <sup>3</sup>	
	METAMIELÓCITOS						%/ mm <sup>3</sup>	
	BASTÕES						%/ mm <sup>3</sup>	
	EOSINÓFILOS						%/ mm <sup>3</sup>	0,0 A 3,0
	BASÓFILOS						%/ mm <sup>3</sup>	0,0 A 3,0
	LINFÓCITOS						/ mm <sup>3</sup>	20,0 A 51,1
	MONÓCITOS						/ mm <sup>3</sup>	
	PLAQUETAS						/ mm <sup>3</sup>	130.000-400.000
PLAQUE TO-GRAMA	M.P.V.						FL	7,40 A 10,4
	P.C.T							
	P.D.W.							
COAG ULOGRAMA	TC						MINUTOS	ATÉ 10
	FIBRINOGENIO						G/DL	2 A 4
	TAP						%	13,5"= 100%
Bioquímica	URÉIA							Adultos 15 – 39 2,5 – 6,4 >60 anos 17 – 45 2,9 – 7,9
	SÓDIO							135 A 145 mmol/L
	POTASSIO							Adultos: 3,5 a 5,1mmol/L
	BILIRRUBINA TOTAL						MG/DL	Até 1,2mg/dL
	BILIRRUBINA INDIRETA						MG/DL	Até 0,8mg/dL
	LDH						U/L	Adultos: de 120 a 240 u/L
	AST						U/L	Homens: até 37u/L Mulheres: até 31u/L
	ALT						U/L	Homens: até 41u/L Mulheres: até 31u/L
	CREATININA							Homens: Inferior a 1,2 Mulheres: Inferior a 1,1
Marcadores Inflamatórios	CK							
	VSH							
	Proteína C reativa							

## 14.2 Urina

Carac. Gerais	VOL						
	COR						amarelo citrino
	ASPECTO						LI Mpidio
	pH						4,5 - 7,8
Bioquímica	DENSIDADE						1,005 - 1,030
	GLICOSE						negativo
	PROTEÍNAS						negativo
	CORPOS CETÔNICOS						negativo
	BILIRRUBINA						negativo
	HEMOGLOBINA						Até 0,015 mg
	NITRITO						negativo
	UROBILINOGÊNIO						até 1 mg/dL
Sedimentoscopia	CEL. EPITELIAIS						0 - 1 (pavimentos)/ campo 400X
	LEUCÓCITOS						0 - 4/campo 400X
	HEMÁCIAS						Homens: 0 - 3/campo 400X Mulheres: 0 - 5/campo 400X
	CRISTAIS						
	CILINDROS						0 - 1 (hialino)/campo 100X
	BACTERIÚRIA						Ausente ou escassa

## 15. Avaliação Final

### 15.1 Última avaliação



15.2 Completou todos os procedimentos  1-Não 2-Sim

Se não, Especifique: \_\_\_\_\_