

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**AÇÃO ANTIOFÍDICA DA CREOLINA® FRENTE A PEÇONHA
DE *Bothrops jararaca* EM RATOS: ASPECTOS CLÍNICOS,
HEMATOLÓGICOS E HISTOPATOLÓGICOS**

**Lucas Rannier Ribeiro Antonino Carvalho
Médico Veterinário**

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AÇÃO ANTIOFÍDICA DA CREOLINA® FRENTE A PEÇONHA
DE *Bothrops jararaca* EM RATOS: ASPECTOS CLÍNICOS,
HEMATOLÓGICOS E HISTOPATOLÓGICOS**

Lucas Rannier Ribeiro Antonino Carvalho

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

2019

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C331a Carvalho, Lucas Rannier Ribeiro Antonino.

AÇÃO ANTIOFÍDICA DA CREOLINA® FRENTE A PEÇONHA
DE
Bothrops jararaca EM RATOS: ASPECTOS CLÍNICOS,
HEMATOLÓGICOS E HISTOPATOLÓGICOS / Lucas Rannier
Ribeiro Antonino Carvalho. - Areia, 2019.
49 f. : il.

Orientação: Ricardo Romão Guerra.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Antiveneno; veneno botrópico; terapia
alternativa. I. Guerra, Ricardo Romão. II.
Título.

UFPB/CCA-AREIA

LUCAS RANNIER RIBEIRO ANTONINO DE CARVALHO

**AÇÃO ANTIOFÍDICA DA CREOLINA® FRENTE A PEÇONHA DE
BOTHROPS JARARACA EM RATOS: ASPECTOS CLÍNICOS,
HEMATOLÓGICOS E HISTOPATOLÓGICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração Saúde Animal do Brejo Paraibano.

APROVADA EM 04/02/2019

BANCA EXAMINADORA



Dr. RICARDO ROMÃO GUERRA
UFPB
Orientador



Dr. ABRAÃO RIBEIRO BARBOSA
Examinador



Dr. JOSÉ RÔMULO SOARES DOS SANTOS
Examinador

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LUCAS RANNIER RIBEIRO ANTONINO CARVALHO - Nascido em 04 de novembro de 1996, no município de Campina Grande, estado da Paraíba. Ingressou no curso de bacharelado em Medicina Veterinária na Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus II, em maio de 2013. Em fevereiro de 2018, obteve o título de Médico Veterinário, juntamente com as premiações de Láurea Acadêmica e Honra ao Mérito do Conselho de Medicina Veterinária da Paraíba, pelo desempenho acadêmico. Realizou trabalhos nos Laboratórios de Patologia Veterinária e Histologia Animal, além de estágios no Hospital Veterinário. Foi monitor da Disciplina Histologia Veterinária por sete períodos letivos, participou ativamente de projetos de pesquisa e extensão, principalmente nas áreas de Envenenamento Botrópico e Histologia Animal Aplicada. Iniciou o curso de mestrado em Ciência Animal pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCAn) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus II – Areia-PB, em março de 2018, sob orientação do Prof. Ricardo Romão Guerra, onde participou de pesquisas juntamente ao Laboratório de Histologia Animal e no desenvolvimento do aplicativo para dispositivos móveis, *Histologia Fácil*.

EPÍGRAFE

"Haverá situações em que sozinho você será aniquilado, mas com a ajuda dos seus amigos, as coisas vão se resolver."

Naruto Uzumaki

DEDICATÓRIA

À minha família e amigos, que sempre estiveram do meu lado, me apoiando, e superando os momentos mais difíceis. Graças a vocês eu sei onde estava, onde estou e para onde vou, e por isso, dedico.

AGRADECIMENTOS

Meus mais sinceros votos de agradecimento aos meus pais, Elias Carvalho Gomes e Verônica Ribeiro Antonino, pelo exemplo como pessoas dignas e excelentes profissionais.

Agradeço de maneira geral à minha família, em especial àqueles que tenho laços mais estreitos, por sempre estarem por perto; vocês são extremamente importantes. Em nome das minhas afilhadas Maria Elisa e Maria Júlia, meus agradecimentos a todos.

Gostaria de expressar meu sentimento de gratidão para com o Professor Ricardo Romão Guerra, pelo excelente trabalho como orientador e professor por anos a fio, pelo espaço e confiança, mas especialmente agradeço pelos exemplos e ensinamentos pessoais, certamente um dos meus exemplos para vida.

Aos amigos que fizeram parte dessa caminhada, principalmente aqueles que participaram ativamente dos trabalhos, muito obrigado pessoal: Helder Camilo, Hugo Thyares, Maryanne Paulino, Valeska Serafim, Paulo Júnior, Maria Eduarda e André Cruz. Especialmente ao meu treinador e grande amigo Helder Camilo, pelo apoio e por abrir meus olhos quando eu mesmo queria ser cego.

Agradecer a minha companheira da vida, Maryanne Paulino por todo apoio técnico-científico, mas também a paciência e zelo para comigo, muito obrigado querida, você mais que ninguém esteve sempre comigo sem duvidar.

Agradeço de forma especial a todos profissionais que compõem o Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal da Paraíba: técnicos, servidores e corpo docente. Em nome do Secretário Josênio e o Prof. Ricardo Barbosa, meu muito obrigado pela dedicação, compromisso e apoio.

Também agradeço ao Instituto Butantan, o Laboratório de Nutrição Experimental (UFCG) e o Laboratório de Matemática e Estatística (CCA/UFPB) em nome do Prof. Péricles de Farias pela parceria, apoio e recursos para que este trabalho pudesse ser executado da melhor forma possível.

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1 – Alterações clínicas identificadas e seus intervalos de tempo em grupo de ratas Wistar após envenenamento botrópico experimental (*Bothrops jararaca*) e tratamento com Creolina[®] por diferentes vias de acesso 44

Tabela 2 - Alterações histopatológicas renais e musculares em ratas Wistar após envenenamento botrópico experimental (*Bothrops jararaca*) e tratamento com Creolina[®] por diferentes vias de acesso..... 44

Tabela 3 - Valores hematológicos de ratas Wistar, oito horas após envenenamento botrópico experimental (*Bothrops jararaca*) e tratamento com Creolina[®] por diferentes vias de acesso (*). Valores expressos em médias \pm desvio padrão.....45

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

Figura 1 - Avaliação macroscópica e microscópica dos membros posteriores direitos de ratas Wistar após envenenamento botrópico experimental (*Bothrops jararaca*) e tratamento com Creolina®. A1) Imagem fotográfica da face lateral direita do membro inoculado apenas com Creolina® por via intramuscular. A2) Fotomicrografia da região de inoculação da Creolina® com evidente infiltrado neutrofílico (*). Coloração Hematoxilina-Eosina. Barra: 200 micrômetros. B1) Imagem fotográfica da face lateral direita do membro inoculado apenas com veneno botrópico por via intramuscular apresentando aspecto friável, edema e hemorragia. B2) Fotomicrografia da região de inoculação do veneno com hemorragia difusa (setas). Coloração Hematoxilina-Eosina. Barra: 100 micrômetros. C1) Imagem fotográfica da face lateral direita do membro inoculado com veneno botrópico e em seguida Creolina® por via intramuscular, apresentando aspecto friável, edema e hemorragia similares a inoculação apenas da peçonha. C2) Fotomicrografia da região de inoculação do veneno e em seguida Creolina® por via intramuscular com hemorragia difusa (setas). Coloração Hematoxilina-Eosina. Barra: 200 micrômetros. D1) Imagem fotográfica da face lateral direita do membro inoculado com a mistura de veneno + Creolina® por via intramuscular. D2) Fotomicrografia da região de inoculação da mistura de veneno + Creolina® por via intramuscular com presença de infiltrado neutrofílico (*). Coloração Hematoxilina-Eosina. Barra: 100 micrômetros 46

LISTA DE ANEXOS

Anexo I – Certificado de aprovação CEUA/UFPB	49
--	----

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	11
ABSTRACT.....	12
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	13
CAPÍTULO 1	15
1. REVISÃO DE LITERATURA	16
1.1 ACIDENTES OFÍDICOS	16
1.2 FAUNA OFÍDICA	17
1.3 PEÇONHA BOTRÓPICA	19
1.4 TERAPIAS ANTIVENENO	20
1.5 CREOLINA®	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
CAPÍTULO 2	29
RESUMO	31
ABSTRACT	32
INTRODUÇÃO.....	32
MATERIAL E MÉTODOS	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41
CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
ANEXO 1	49

AÇÃO ANTIOFÍDICA DA CREOLINA® FRENTE A PEÇONHA DE *Bothrops jararaca* EM RATOS: ASPECTOS CLÍNICOS, HEMATOLÓGICOS E HISTOPATOLÓGICOS

RESUMO GERAL – Os acidentes ofídicos representam um grave problema de saúde única no mundo, além de prejuízos econômicos nos sistemas de produção animal. No Brasil, serpentes do gênero *Bothrops* são responsáveis pela maioria dos acidentes. O tratamento específico preconizado no Brasil é a utilização do soro antibotrópico pentavalente associado ao tratamento auxiliar sintomático, de acordo com a gravidade do acidente. No entanto, essa conduta terapêutica apresenta dificuldades na obtenção e distribuição, alto custo, reações imunológicas consideráveis e não é eficaz frente aos danos teciduais locais causados pela peçonha. Diante disso, novas terapias que tratem os efeitos do veneno e/ou complementem a soroterapia se fazem necessárias. Este estudo tem como objetivo avaliar a possível atividade antiofídica da Creolina® frente a peçonha de *Bothrops jararaca*. Em ratas Wistar adultas, foi inoculado a peçonha botrópica por via intramuscular, e imediatamente após administrada Creolina® por via oral, tópica, intramuscular e a mistura: (Peçonha + Creolina®), por via intramuscular. Os animais foram avaliados clinicamente por oito horas, em seguida eutanasiados para coleta de amostras de sangue e tecidos. Os grupos que tiveram contato com a Creolina® por via oral, tópica e muscular separadamente desenvolveram a sintomatologia local e achados laboratoriais semelhantes ao grupo que recebeu apenas o veneno. Já os animais inoculados com a peçonha junto à Creolina® em uma mistura, não apresentaram sinais característicos da ação local do veneno (necrose, hemorragia) e apresentaram parâmetros hematológicos dentro da normalidade. Tais resultados sugerem que a Creolina® isoladamente não apresente ação antiofídica, porém quando misturada a peçonha botrópica possa inativar parcialmente seus componentes bioativos. Diante disso, mais estudos são necessários para avaliação dessa terapia alternativa utilizada empiricamente.

Palavras-chave: Antiveneno, veneno botrópico, alcatrão de hulha, terapia alternativa, etnofarmacologia

ANTIOFIDIC ACTION OF CREOLIN® AGAINST *Bothrops jararaca* VENOM IN RATS: CLINICAL, HEMATOLOGICAL AND HISTOPATOLOGICAL ASPECTS

ABSTRACT – Snakebites represent a serious one health problem in the world, as well as economic losses in animal production systems. In Brazil, snakes of the genus *Bothrops* are responsible for most accidents. The specific treatment recommended in Brazil is the use of pentavalent antivenom serum associated to the symptomatic auxiliary treatment, according to the severity of the accident. However this therapeutic treatment presents difficulties in obtaining and distribution, high cost, considerable immunological reactions and is not effective against to local tissue damage caused by venom. Therefore, new therapies that treat the effects of venom and/or complement the serum therapy are necessary. This study aims to evaluate the possible antiofidic activity of Creolin® against *Bothrops jararaca* venom. In adult Wistar rats, the bothropic venom was inoculated intramuscularly and immediately after administration of Creolin® orally, topically, intramuscularly, and the mixture: (Venom + Creolin®), intramuscularly. The animals were clinically evaluated for eight hours, then euthanized for collection of blood and tissue samples. Groups that had oral, topical, and muscle contact with Creolin® separately developed local symptomatology and laboratory findings similar to those receiving only the venom. However, the animals inoculated with the venom with Creolin® in a mixture did not show signs of local venom action (necrosis, hemorrhage) and presented hematological parameters within the normal range. These results suggest that Creolin® alone does not present antiofidic action, but when mixed the bothropic venom can partially inactivate its bioactive components. Therefore, more studies are needed to evaluate this alternative therapy used empirically.

Keywords: Antivenom, bothropic venom, coal-tar, alternative therapy, ethnopharmacology

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Os acidentes envolvendo serpentes venenosas são considerados um grave problema de saúde única em todo globo, especialmente nos países de clima tropical e subtropical devido à maior prevalência dos casos. Atualmente são classificados como uma doença tropical negligenciada pela Organização Mundial de Saúde (BRASIL, 2001).

Segundo o Ministério da Saúde, no Brasil em 2017 foram mais de 30 mil notificações, aproximadamente 14,6 casos para cada 100.000 habitantes. O gênero *Bothrops* é responsável por mais de 90% dos acidentes no país, esses animais são popularmente conhecidos como “jararaca”, “ouricana”, “caiçara”, entre outros (BRASIL, 2017).

A peçonha das serpentes botrópicas, é uma mistura complexa de compostos proteicos e não-proteicos capaz de provocar, lesões graves com sequelas locais e sistêmicas que podem culminar na morte das vítimas. As manifestações locais causadas pelo veneno são principalmente: dor, edema, hemorragia e necrose; e as alterações sistêmicas: distúrbios da coagulação, choque, alterações renais e cardiovasculares (PINHO; PEREIRA, 2001).

Em animais, os acidentes por serpentes venenosas apresentam considerável notoriedade mesmo com dados epidemiológicos escassos na literatura devido a não obrigatoriedade de notificação. O diagnóstico do empeçonhamento ofídico atualmente constitui um desafio para o médico veterinário, pois as espécies domésticas apresentam diferentes graus de susceptibilidade aos venenos. Além da sensibilidade interespecífica, o tipo de veneno, o tamanho da vítima e a quantidade de peçonha inoculada, podem causar sintomatologia distinta nos animais e com isso, sendo necessário além do tratamento específico, diferentes métodos de terapia auxiliar sintomática (BRASIL, 2017).

O tratamento específico preconizado nos casos de acidentes envolvendo serpentes botrópicas é o uso do soro antibotrópico pentavalente associado a terapia sintomática. A utilização do soro, apresenta desvantagens significativas que muitas vezes inviabilizam o tratamento específico. Esse produto não é facilmente distribuído nas regiões mais remotas do país, apresenta alto custo de produção, não atua sobre

a sintomatologia local e deve ser administrado o mais breve possível, pois a partir de certo tempo e instalado os sintomas o soro pode não apresentar resultados significativos. Podemos considerar também como desvantagem do uso do soro antiofídico, a reação imunológica que essa substância heteróloga pode causar no organismo, como o desenvolvimento de reações precoces ou tardias, também chamadas de doença do soro.

Muitos casos de acidentes ofídicos em humanos não chegam aos órgãos responsáveis devido as dificuldades enfrentadas pela população e a precariedade do sistema de saúde em algumas regiões. Em outros animais, na maioria dos empeçonhamentos as vítimas não têm assistência médico veterinária adequada e devido as limitações supramencionadas a utilização do tratamento específico é pouco frequente. Em muitos desses casos onde não é possível proceder com a soroterapia, são empregadas técnicas alternativas difundidas pela sabedoria popular, como o uso de plantas medicinais, extratos e outros compostos na tentativa de reverter o quadro causado pelo veneno.

No semiárido da Paraíba, o produto comercial Creolina[®], vendido em lojas agropecuárias como desinfetante e antisséptico de uso veterinário, é uma das substâncias utilizadas pelos produtores na tentativa de reverter o quadro causado pela peçonha de serpentes do gênero *Bothrops*. Segundo o conhecimento popular, o produto utilizado por via oral, quando aplicado em tempo hábil, apresenta ação antiofídica significativa, sendo um dos métodos mais utilizados na região para o tratamento do envenenamento em bovinos e pequenos ruminantes.

Diante disso, e da necessidade de desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas, cientificamente validadas, de fácil acesso e de baixo custo para tratar as vítimas dos acidentes ofídicos, se justifica o estudo da viabilidade do uso da Creolina[®] como substância antiofídica, além da avaliação dos seus possíveis efeitos tóxicos.

CAPÍTULO 1

ACIDENTES OFÍDICOS NO BRASIL: UMA ABORDAGEM INTEGRADA DA EPIDEMIOLOGIA AOS TRATAMENTOS EMPÍRICOS

(REVISÃO DE LITERATURA)

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 ACIDENTES OFÍDICOS

Os acidentes ofídicos são considerados um sério problema de saúde pública no mundo, sobretudo em países de clima tropical e subtropical, devido à alta morbimortalidade que ocasionam. A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica o acidente por serpente venenosa como doença tropical negligenciada e estima que ocorram em humanos em todo o mundo, aproximadamente 2,5 milhões de acidentes por ano, sendo 85.000 casos fatais (GUTIÉRREZ et al., 2010).

No Brasil, segundo os dados disponibilizados pelo Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) do Ministério da Saúde (BRASIL, 2018), foram registrados 30.367 casos de acidentes ofídicos envolvendo humanos no ano de 2017, aproximadamente 14,6 casos para cada 100.000 habitantes, destes 126 cursaram com óbito das vítimas. As regiões Sudeste e Nordeste do país são as mais afetadas, compreendendo quase 57% dos acidentes ofídicos no ano de 2017. Entre os anos de 2000 e 2017 foram registrados 473.550 casos de acidentes por serpentes peçonhentas no Brasil, com 1.782 casos fatais, um número significativamente grande, mas que ainda é subestimado visto o fato de que muitos ataques ofídicos acontecem em regiões remotas do país com difícil acesso a assistência básica, ou nos casos onde a vítima pode ter optado por não buscar atendimento adequado.

Frequentemente esses acidentes cursam com sequelas devido as complicações locais pelo efeito da peçonha inoculada. Dez por cento dos acidentes envolvendo espécimes do gênero *Bothrops* foram relacionados com sequelas graves podendo chegar a amputação de membro acometido. Esses casos foram relacionados a fatores de risco como uso de torniquete, retardo no tratamento específico e picada em extremidades (mãos e pés) (BRASIL, 2017).

Segundo o SINAN, no ano de 2017 a maior parte dos acidentes aconteceu entre os meses de janeiro e maio, corroborando o sugerido por Chippaux (2017), onde afirma que a epidemiologia dos acidentes por serpentes venenosas parece ser distribuída sazonalmente, sendo a maior parte dos acidentes registrados no verão e principalmente nas áreas rurais. Bochner et al. (2014) ao analisar os dados do

SINAN de 2001 a 2012, descreveram o perfil da maioria das vítimas dos acidentes ofídicos como tendo idade entre 20 a 59 anos, aproximadamente 75% do sexo masculino, apresentando sintomatologia leve a moderada e acidentes nos membros inferiores, cursando com o quadro fatal em menos de 1% das observações.

Na medicina veterinária, os acidentes ofídicos também representam um considerável problema para os animais domésticos. Entre as espécies há variações entre a susceptibilidade quanto aos tipos de veneno, o tamanho da vítima e da quantidade de veneno inoculada. Os dados epidemiológicos a respeito dos acidentes são escassos, isso se deve ao fato de que a notificação dos casos não é obrigatória na medicina veterinária, diferentemente do encontrado em humanos (BARNI et al., 2012; TOKARNIA et al., 2014).

Em bovinos, é inegável que os acidentes ofídicos ocorram, mas estes parecem ter uma importância diferente do que se acredita no país, devido a prática de atribuir a picadas de serpentes as mortes causadas por outros agentes ou de etiologia desconhecida. Tokarnia e Peixoto (2006) buscaram evidências para estabelecer a real importância desses acidentes em bovinos. Segundo eles as opiniões dos médicos veterinários sobre o tema são divergentes, mas que o “homem do campo”, como se referiram aos trabalhadores rurais, na maioria das vezes atribui uma grande importância aos envenenamentos. Os autores concluíram que a importância dos acidentes ofídicos fatais em bovinos está realmente sendo superestimada no Brasil, mas devido as dificuldades em determinar até que ponto os acidentes podem causar o óbito nos animais e a variabilidade da peçonha entre as espécies, mais estudos precisam ser realizados.

1.2 FAUNA OFÍDICA

No Brasil diversas espécies de serpentes são encontradas, compondo umas das mais ricas faunas conhecidas no mundo, segundo a Sociedade Brasileira de Herpetologia são encontradas 442 espécies divididas em 25 famílias (COSTA; BÉRNILS, 2018). Os gêneros *Bothrops*, *Crotalus*, *Lachesis* e *Micrusus* são considerados de importância médica devido a severidade das lesões que a inoculação acidental da peçonha provoca em humanos e outros animais. Esses animais são conhecidos popularmente como, respectivamente, “jararaca”,

“cascavel”, “surucucu” e “coral-verdadeira”. Essa denominação, mesmo não distinguindo a espécie, serve para as vítimas identificarem o gênero envolvido no acidente ofídico o que é de suma importância na indicação mais precisa do antiveneno a ser administrado (BRASIL, 2001, 2017). Os ataques por serpentes não-peçonhentas geralmente não provocam sintomatologia grave nem sequelas, e em razão disso mesmo sendo relativamente frequentes não são considerados de interesse médico (GOMES et al., 2016; FÉLIX-SILVA, 2014).

O gênero *Bothrops* pertencente à família Viperidae é considerado o de maior importância dentro os supracitados no Brasil, sendo considerado responsável por cerca de 90% dos casos registrados (BRASIL, 2001). Esse gênero compreende mais de 30 espécies distribuídas por todo território nacional, conhecidas popularmente como: jararaca, ouricana, jararaca-do-rabo-branco, jararacuçu, urutu-cruzeira, malha-de-sapo, patrona, caiçara, entre outros; as denominações utilizadas pela população variam entre as regiões do país (COSTA; BÉRNILS, 2018).

As espécies deste gênero responsáveis pelo maior número de acidentes ofídicos no Brasil são: *Bothrops jararaca*, *Bothrops erythromelas*, *Bothrops neuwiedi*, *Bothrops atrox*, *Bothrops jaracussu*, *Bothrops alternatus* e *Bothrops moojeni*. Morfologicamente esses animais apresentam dentição do tipo solenóglifo (par de presas ocas com um canal injetor de peçonha), presença de fosseta loreal entre o olho e narina, cabeça triangular e cauda lisa. A coloração pode ser variação de acordo com a vegetação como técnica adaptativa, apresentando tons castanhos claros a preto, com manchas em forma de “v” invertido por todo corpo. Espécimes adultos podem chegar a 1,5 metro, com ninhadas de 3 a 35 indivíduos nascidos com cerca de 20 centímetros (BRASIL, 2001; PINHO; PEREIRA, 2001).

Esses animais habitam todos os biomas brasileiros, desde cerrado e caatinga a áreas insulares e faixas litorâneas. Atualmente estão sendo cada vez mais encontrados em regiões urbanas e suburbanas devido a invasão e destruição do seu habitat natural. Preferem ambientes úmidos e áreas cultivadas, onde haja possível proliferação de roedores. Os hábitos são predominantemente noturnos ou crepusculares, esses animais apresentam comportamento extremamente agressivo, atacando ao menor sinal de ameaça e a maior parte das vezes sem produzir ruídos;

característica que pode ser relacionada com a epidemiologia dos acidentes causados por este gênero (MOURA; MOURÃO, 2012).

1.3 PEÇONHA BOTRÓPICA

O mecanismo inoculador dos animais do gênero *Bothrops* é bastante especializado e aperfeiçoado. A peçonha pode ser utilizada como mecanismo de ataque para imobilizar e incapacitar a presa, como defesa contra predadores e também auxiliar na digestão dos alimentos (FÉLIX-SILVA, 2014). A peçonha é produzida e mantida nas glândulas de Duvernoy, órgãos pares situados na base da cabeça. No momento da picada os músculos ao redor da glândula se contraem fazendo com o que a peçonha passe através dos ductos lobulares para as longas presas retráteis inoculadoras, que ao perfurarem a presa depositam o composto no tecido muscular e/ou subcutâneo da vítima (LOBO et al., 2014).

As proporções e características específicas das peçonhas botrópicas podem sofrer variações decorrentes da idade, sexo, sazonalidade, variação geográfica e alimentação das serpentes. Senise (2014) avaliou os distúrbios causados por peçonhas de serpentes *B. jararaca* adultas e filhotes e concluiu que as peçonhas apresentam efeitos semelhantes no organismo animal independentemente da idade, sendo recomendado o mesmo tratamento para ambos. Porém, a quantidade de peçonha inoculada por um animal adulto é maior, o que pode desencadear sinais clínicos mais intensos.

O veneno de serpentes do gênero *Bothrops* é uma mistura complexa de compostos proteicos (proteínas, pequenos peptídeos e enzimas que correspondem a 95% do peso seco) e não-proteicos (carboidratos, lipídeos, íons e aminas biogênicas). Quando inoculado no organismo da vítima é capaz de desencadear manifestações locais (dor, edema, hemorragia e necrose) e sistêmicas (distúrbios da coagulação sanguínea, choque, alterações renais e cardiovasculares) através da lesão direta aos vasos sanguíneos, ativação dos fatores de coagulação e alteração da função plaquetária (PINHO; PEREIRA, 2001; YAMASHITA, 2013; SENISE et al., 2014; GOMES et al., 2016).

São encontradas na peçonha dos animais deste gênero, diversas toxinas entre elas as metaloproteases, serinoproteases, hialuronidases, fosfolipases,

hemorraginas e mediadores da resposta inflamatória (PINHO; PEREIRA, 2001). Esses compostos podem agir sinergicamente produzindo um efeito específico, podem produzir o efeito a partir de um grupo específico de componentes ou ainda através da ação de toxinas isoladas (FÉLIX-SILVA, 2014).

1.4 TERAPIAS ANTIVENENO

Para um tratamento adequado nos casos de acidentes ofídicos o diagnóstico correto é imprescindível, de acordo com o Guia de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (BRASIL, 2017), não se é empregado exame laboratorial para confirmação do veneno circulante, nos casos de ataque envolvendo serpentes peçonhentas. Nesses casos o diagnóstico é clínico-epidemiológico, ou seja, de acordo com os dados da anamnese, manifestações locais e sistêmicas, distribuição geográfica, identificação do animal, entre outros; que o tratamento é estipulado.

O Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos (BRASIL, 2001), elenca alguns exames complementares que podem auxiliar no diagnóstico, como: tempo de coagulação, hemograma, exame sumário de urina e métodos de imunodiagnóstico. Além disso, outros recursos laboratoriais podem ser utilizados de acordo com a sintomatologia e evolução clínica da vítima, como avaliação da função renal e hepática e dosagem de eletrólitos. De acordo com Pinho e Pereira (2001), os antígenos do veneno botrópico podem ser detectados no sangue e outros líquidos corporais através da técnica de ELISA, porém como supracitado, técnicas laboratoriais não são empregadas rotineiramente.

No Brasil, o tratamento específico validado pelos órgãos competentes nos casos de acidentes provocados por animais peçonhentos é a administração do soro específico (antiveneno) para cada tipo de acidente, a dose utilizada é estipulada de acordo com a gravidade do acidente. No acidente botrópico é recomendado a utilização do soro antibotrópico pentavalente (SAB), o soro antibotrópico pentavalente associado do soro antilaquético (SABL) ou o soro antibotrópico pentavalente associado ao soro anticrotálico (SABC). De acordo com a tabela fornecida pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2017), no casos de envenenamento botrópico considerados leves é necessária a administração de 2 a 4 ampolas, nos

casos moderados, 4 a 8 ampolas e nos casos graves, 12 ampolas de soro, que pode ser isolado ou associado (SAB/SABL/SABC).

Além do tratamento específico o Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos (BRASIL, 2001) ainda deixa claro a necessidade de tratamento auxiliar, que consiste em medidas gerais que devem ser tomadas para tratamento das alterações locais e outras. A limpeza, elevação do local de inoculação e o uso de analgésicos para controle da dor, podem auxiliar na redução do edema e estabilização da vítima. Além disso, também é preconizado a manutenção da hidratação e emprego de antibióticos quando houver indícios de infecção, sendo utilizados especificadamente de acordo com o antibiograma. O paciente deve ser internado e acompanhado para controle clínico e laboratorial por no mínimo 72 horas (PINHO; PEREIRA, 2001).

Em humanos, o prognóstico nos acidentes ofídicos é geralmente bom, quando tratados especificadamente e a letalidade é baixa, aproximadamente 0,3% (BRASIL, 2001), podendo cursar com sequelas locais anatômicas e funcionais. Em medicina veterinária, o tratamento específico utilizando o soro ainda tem acesso limitado, e mesmo nos casos de atendimento rápido, o prognóstico é reservado.

Deve-se considerar ainda que o tratamento específico possui características que o limitam. O soro antiofídico não é capaz de neutralizar os efeitos locais, o que gera danos irreversíveis as vítimas, principalmente nos acidentes botrópicos onde a necrose e hemorragia locais são consideráveis. A eficiência do soro está relacionada com o tempo de administração após a inoculação do veneno, sendo muitas vezes administrado quando os efeitos já estão instalados não sendo possível reversão. O tratamento específico em questão não é prontamente disponível em todos os hospitais e centros de saúde do país, fazendo deste uma alternativa de difícil acesso e alto custo para grande parte das vítimas de acidentes ofídicos. Essa condição favorece os casos de subnotificação e atendimento inadequados das mesmas (KUNIYOSHI, 2013; FÉLIX-SILVA, 2014).

Uma limitação considerável do uso do soro antibotrópico é a reação imunológica causada pela administração de material heterólogo no organismo, essas reações podem ser precoces ou tardias. As reações a soroterapia precoces ocorrem no momento da infusão do soro e nas duas horas subsequentes, os sinais são

geralmente leves como urticária, tremores, tosses, dor e rubor facial, porém o paciente deve ser observado quanto ao desenvolvimento de quadros semelhantes as reações anafiláticas. As reações tardias, ou doença do soro, ocorre de 5 a 24 dias após a soroterapia, os pacientes podem apresentar alterações sistêmicas, como febre, artralgia, linfadenomegalia, urticária e proteinúria (BRASIL, 2001).

Atualmente a utilização da soroterapia mesmo diante de todos os benefícios e sendo a forma específica de tratamento nos acidentes ofídicos, apresenta limitações consideráveis, sendo importante a pesquisa por formas de tratamento alternativas que possam complementar a utilização do soro.

As plantas medicinais se destacam como formas alternativas e complementares de tratamento nos casos de envenenamento por serpentes (MOURA; MOURÃO, 2012; FÉLIX-SILVA et al., 2014). Devido ao seu potencial medicinal diversas plantas são estudadas com base nos relatos de sua utilização na medicina popular, objetivando o desenvolvimento de terapias eficientes, mais baratas e de fácil acesso. Extratos e compostos de vários tipos vegetais já foram cientificamente testados frente a venenos para avaliação de sua capacidade antiofídica, como o decocto das folhas de *Jatropha gossypifolia* L. (FÉLIX-SILVA, 2014); o extrato de *Anacardium humile* (COSTA, 2010); o extrato de *Jatropha mollissima* (Pohl) Bail (GOMES, 2015); o extrato de *Mikania glomerata* (MOTTA, 2017) e o extrato de *Bellucia dichotoma Cogn.* (MOURA, 2016).

Embora muitas plantas e compostos não possam agir neutralizando diretamente a peçonha, seus princípios ativos isolados ou a associação desses podem agir benéficamente sobre os sintomas locais e sistêmicos desenvolvidos no empeçonhamento, podendo servir como terapia complementar ao tratamento estipulado atualmente.

1.5 CREOLINA®

A Creolina® foi lançada no mercado nos anos 30 pela empresa WILLIAM PEARSON LTDA. Atualmente é produzida e comercializada pela EUROFARMA LABORATÓRIOS LTDA. Segundo o fabricante, este produto tem aspecto de líquido preto, oleoso, isento de partículas e homogêneo. Possuir um odor forte e característico com pH entre 8-9 para solução a 21%. O composto é solúvel em água,

álcool, éter etílico e clorofórmio. É um produto estável para manuseio sob condições normais, porém não deve ser aquecido pois pode liberar gases tóxicos e irritantes (INTERTOX, 2011).

A Creolina® apresenta grave toxicidade aguda quando ingerida ou inalada podendo também, em contato com a pele, causar queimaduras graves, dor, edema entre outros sinais inflamatórios. Se inalado, o produto pode causar excitação e posterior depressão do sistema nervoso, sonolência, vertigem (efeitos narcóticos) podendo induzir ao estado comatoso. Quando ingerido pode causar corrosão do esôfago e estômago. Após a absorção do produto pode-se desenvolver danos aos componentes sanguíneos, ao fígado, aos rins, coração e irritação das vias respiratórias (INTERTOX, 2011).

A exposição prolongada ao composto pode causar leucopenia e plaquetopenia, cefaleia, náuseas, vômitos, insuficiência renal, tremores além de lesões cardiovasculares, hepáticas e danos ao epitélio pulmonar. Outros efeitos tóxicos relacionados são a capacidade mutagênica dos fenóis e a alteração da capacidade reprodutiva em doses não tóxicas. O mecanismo pelo qual este produto pode desencadear tais alterações ainda não foi totalmente esclarecido (INTERTOX, 2011; VEARRIER; JACOBS; GREENBERG, 2015)

Segundo o fabricante os principais sintomas da intoxicação com Creolina® são dor de estômago, cefaleia, dor e eritema na pele, dor nos olhos, efeitos narcóticos, náuseas, vômitos, diarreia e tremores. Com base nisso, este produto é taxado como: “DESINFETANTE VETERINÁRIO COMBUSTÍVEL, PERIGOSO PARA SAÚDE HUMANA” (INTERTOX, 2011).

A Creolina® pertence ao agrupamento químico dos fenóis, é uma mistura de hidrocarbonetos derivados do alcatrão de hulha ou “coal-tar” na concentração de 56%, cresóis (10,5%) e fenóis (10,5%). O alcatrão ou alcatrão de hulha é utilizado para confecção de vários produtos, o princípio puro é comercializado em forma de xampus (Tarflex® 40mg/ml – IonilT® 0.85% e MG217® 2%) sendo indicado para casos de oleosidade, caspa, dermatite seborreica e auxiliar o tratamento de psoríase e eczema.

Os fenóis são amplamente utilizados na indústria, na formulação de drogas (ácido salicílico), como matéria prima na produção de intermediários da produção de

plásticos e nylon, entre outros (OLIVEIRA, 2015). Na produção do soro antibotrópico pentavalente, além das imunoglobulinas específicas purificadas obtidas de plasma de equinos hiperimunizados com uma mistura de venenos de serpentes, é adicionado uma quantidade de fenol como conservante na concentração máxima de 35mg para cada 10ml de soro (BUTANTAN, 2012).

Em medicina veterinária a Creolina® é indicada para tratamento de miíases, como solução germicida, antisséptica e anti-helmíntica, existe a contraindicação do uso apenas em felinos. Além disso, há relatos do uso da Creolina® na produção de explosivos, perfumes, na fabricação de reveladores fotográficos e controle de patógenos e pragas agrícolas (STEFFEN et al., 2010; HAVERKOS; HAVERKOS; O'MARA, 2017).

O mecanismo e eficácia de ação da Creolina® ainda não é totalmente esclarecido, suspeita-se que por ser um composto fenólico possa atuar inativando enzimas, desnaturando proteínas e alterando a permeabilidade seletiva da membrana dos microrganismos (JAIGOBIND et al., 2007).

Além do uso habitual da Creolina®, no semiárido Paraíba este produto é também usado de forma empírica como substância antiofídica na tentativa de reverter o quadro clínico causado pelo envenenamento por serpentes dos gêneros *Bothrops* em bovinos e pequenos ruminantes. O produto é administrado puro e em pequena quantidade na língua do animal, imediatamente após a suspeita do acidente ofídico. Atualmente essa prática é bastante difundida entre os fazendeiros e vaqueiros da Paraíba, fazendo desse o único recurso nos casos de acidentes por serpentes peçonhentas, visto as dificuldades enfrentadas na aquisição e distribuição do soro antiofídico.

A sua possível capacidade de desnaturar proteínas e inativar enzimas, os achados experimentais prévios e os relatos de uso empírico, fomentam a suspeita que a Creolina® possa agir benéficamente sobre os efeitos causados pela ação do veneno *in vivo*. Porém, para determinar tal efeito, estudos que validem a utilização no gerenciamento do envenenamento botrópico, precisam ser realizados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARNI, B.S. et al. Incidência e perfil dos animais atendidos devido a acidente ofídico no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul entre os anos de 2005 e 2010. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 40, n. 1, p. 93–100, 2012.

BOCHNER, R.; FISZON, J.T.; MACHADO, C. A Profile of Snake Bites in Brazil, 2001 to 2012. **Journal of Clinical Toxicology**, v. 4, n. 3, p. 1-7, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos**. Brasília, 2001. 120 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde**. Volume único, 2 ed. Brasília, 2017. 705 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). **Casos de acidentes por serpentes. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas, 2000 a 2017**. Brasília, 2018. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/acidentes-por-animais-peconhentos/13712-situacao-epidemiologica-dados>>. Acesso em: 13 maio 2018.

BUTANTAN, Governo do estado de São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. **Bula do Produto: Soro Antibotrópico (Pentavalente)**. Volume único. São Paulo-SP, 2012. 2p.

CHIPPAUX, J-P. Incidence and mortality due to snakebite in the Americas. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 6, p. 1-39, 2017.

COSTA, T.R. **Avaliação da atividade antiofídica do extrato vegetal de *Anacardium humile*: Isolamento e caracterização fitoquímica do ácido gálico com potencial antimiotóxico**. 2010. 80f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Toxicologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

COSTA, H.C.; BÉRNILS, R.S. Répteis do Brasil e suas unidades federativas: Lista de Espécies. **Herpetologia Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 11-59, 2018.

FÉLIX-SILVA, J. **Atividade antiofídica do decocto das folhas de *Jatropha gossypifolia* L. frente o veneno de *Bothrops jararaca***. 2014. 129f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

FÉLIX-SILVA, J. et al. *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae): A Review of Traditional Uses, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology of This Medicinal Plant. **Hindawi**, v. 1, p. 1-32, 2014.

GOMES, J.A.S. et al. Aqueous Leaf Extract of *Jatropha mollissima* (Pohl) Bail Decreases Local Effects Induced by Bothropic Venom. **Hindawi**, v. 2016, p. 13, 2016.

GOMES, J.A.S. **Inibição dos efeitos locais induzidos pelas peçonhas das serpentes *Bothrops erythromelas* e *Bothrops jararaca* pelo extrato aquoso das folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Bail**. 2015. 65f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

GUTIÉRREZ, J.M. et al. Snakebite envenoming from a global perspective: Towards an integrated approach. **Toxicon**, v. 56, n. 7, p. 1223–1235, 2010.

HAVERKOS, H.W.; HAVERKOS, G.P.; O'MARA, M. Co-carcinogenesis: Human papillomaviruses, Coal tar derivatives, and Squamous Cell Cervical Cancer. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1–6, 2017.

INTERTOX. **Ficha de informações de segurança de produto químico (FISPQ - Creolina 100ml)**. Eurofarma Laboratórios LTDA., Rio de Janeiro-RJ, p. 1-14, 2011. Disponível em: <<http://www.intertox.com.br>>.

JAIGOBIND, A.G.A.; AMARAL, L.; JAISINGH, S. **Desinfetante doméstico – Dossiê técnico**. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. Instituto de Tecnologia do Paraná. p.23, 2007.

KUNIYOSHI, A.K. **Eficácia do soro antibotrópico produzido no Instituto Butantan: neutralização de diferentes classes de enzimas proteolíticas do veneno total da *Bothrops jararaca***. 2013. 64f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, 2013.

LOBO, L.M. et al. Análise comparativa dos diferentes tipos de dente em serpentes. **Acta Tecnológica**, v. 9, n. 2, p. 1–8, 2014.

MOTTA, Y.P. **Aspectos clínico, laboratorial e histopatológico da intoxicação experimental pelos venenos das serpentes *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus terrificus* em ratos Wistar tratados com antiveneno e *Mikania glomerata***. 2008. 80f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP.

MOURA, V.M. **Avaliação do potencial antiofídico do extrato aquoso de *Bellucia dichotoma* Cogn. (Melastomataceae) elaborado de acordo com o uso tradicional**. 2016. 108f. Tese (Doutorado) – Programa Multi-institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2016.

MOURA, V.M.; MOURÃO, R.H.V. Aspectos do ofidismo no Brasil e plantas medicinais utilizadas como complemento à soroterapia. **Scientia Amazonia**, v. 1, n. 3, p. 17-26, 2012.

OLIVEIRA, P.H.R. Métodos de preparação industrial de solventes e reagentes químicos. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1579-1593, 2015.

PINHO, F.M.O.; PEREIRA, I.D. Ofidismo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 47, n. 1, p. 24-29, 2001.

SENISE, L.V. **Avaliação dos distúrbios hemostáticos induzidos por venenos de serpentes *Bothrops jararaca* (Squamata: Viperidae) adultas e filhotes e eficácia do tratamento com soro antibotrópico**. 2014. 140f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2014.

STEFFEN, R.B. et al. Efeitos da Creolina sobre a nematofauna associada a cultura do fumo. **Tecno-lógica**, v. 14, n. 1, p. 20-25, 2010.

TOKARNIA, C.H. et al. Quadros clínico-patológicos do envenenamento ofídico por *Crotalus durissus terrificus* e *Bothrops* spp. em animais de produção. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 301–312, 2014.

TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V. A importância dos acidentes ofídicos como causa de mortes em bovinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 55–68, 2006.

VEARRIER, D.; JACOBS, D.; GREENBERG, M.I. Phenol Toxicity Following Cutaneous Exposure to Creolin®: A Case Report. **Journal of Medical Toxicology**, v. 11, n. 2, p. 227–231, 2015.

YAMASHITA, K.M. **Patogênese dos distúrbios hemostáticos sistêmicos induzidos pelo veneno da serpente *Bothrops jararaca***. 2013. 99f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2013.

CAPÍTULO 2

Efeitos da Creolina® administrada por diferentes vias em ratos experimentalmente envenenados por peçonha de *Bothrops jararaca*

(Artigo submetido – Revista Ciência Rural ISSN: 1678-4596)



Efeitos da Creolina® administrada por diferentes vias em ratos experimentalmente envenenados por peçonha de Bothrops jararaca

Journal:	<i>Ciência Rural</i>
Manuscript ID	CR-2018-0699.R1
Manuscript Type:	Original Article
Keyword:	Alternative therapy, Bothropic venom, Antivenom

SCHOLARONE™
Manuscripts

Efeitos da Creolina[®] administrada por diferentes vias em ratos experimentalmente envenenados por peçonha de *Bothrops jararaca*

Effects of Creolin[®] administered by different pathways in rats experimentally poisoned by *Bothrops jararaca* venom

Lucas Rannier Ribeiro Antonino Carvalho^I Helder Camilo da Silva Pereira^{II} Hugo Thyares Fonseca Nascimento Pereira da Silva^{II} Ricardo Barbosa de Lucena^I Ricardo Romão Guerra^{I*}

RESUMO

Esse estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da Creolina[®] quando administrada por diferentes vias de acesso em ratos experimentalmente envenenados pela peçonha de *Bothrops jararaca*. Em ratas Wistar fêmeas foi inoculada a peçonha botrópica por via intramuscular, em seguida administrada Creolina[®] por via oral, tópica, intramuscular e a mistura: Peçonha + Creolina[®]. Os animais que tiveram contato com a Creolina[®] por via oral, tópica e muscular separadamente desenvolveram a sintomatologia local e achados laboratoriais semelhantes ao grupo que recebeu apenas o veneno. Já os animais inoculados com a peçonha junto à Creolina[®] misturados, não apresentaram sinais característicos da ação local do veneno (necrose, hemorragia) e apresentaram parâmetros hematológicos dentro da normalidade para espécie. Esses resultados sugerem um efeito antiofídico da Creolina[®] apenas quando misturada à peçonha e administrada por via intramuscular. Diante disso, mais estudos são necessários para validação dessa terapia alternativa.

Palavras-chave: Terapia alternativa, antiveneno, veneno botrópico

^{I*}Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), 58397-000, Areia, PB, Brasil. E-mail: ricardo@cca.ufpb.br. Autor para correspondência.

^{II} Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Areia, PB, Brasil.

ABSTRACT

This study aims to evaluate the effects of Creolina® when administered by different pathways in rats experimentally poisoned by *Bothrops jararaca* venom. In female Wistar rats, the bothropic venom was inoculated intramuscularly, then administered Creolin® orally, topically, intramuscularly and the mixture: Venom + Creolin®. Animals that had oral, topical and muscle contact with Creolin® separately developed local symptoms and laboratory findings similar to those receiving only the venom. On the other hand, the animals inoculated with the venom mixed with Creolin® showed no signs of local poison action (necrosis, hemorrhage) and presented hematological parameters within the normal range for the species. These results suggest an antiofidic effect of Creolin® only when mixed with venom and administered intramuscularly. Therefore, more studies are required to validate this alternative therapy

Key words: Alternative therapy, antivenom, bothropic venom

INTRODUÇÃO

Os acidentes ofídicos representam um grave problema de saúde pública no mundo, principalmente nos países tropicais devido à alta morbimortalidade que ocasionam. No Brasil, o gênero *Bothrops* é responsável por mais de 90% dos envenenamentos. Esses animais são popularmente conhecidos como “jararaca”, “ouricana”, “caiçara”, entre outros (BRASIL, 2001).

Os venenos das serpentes do gênero *Bothrops* são misturas complexas, compostas por diversas proteínas e compostos não-proteicos, capazes de desencadear no organismo

animal efeitos locais imediatos (edema, hemorragia e necrose), e sistêmicos como alterações cardiovasculares (alterações hemostáticas, coagulopatias e choque hipovolêmico) e renais (insuficiência renal aguda) (SENISE et al., 2015).

O tratamento específico preconizado nos casos de acidentes botrópicos é o uso do soro antibotrópico pentavalente associado a terapia auxiliar sintomática. A utilização do soro apresenta desvantagens significativas que muitas vezes inviabilizam o tratamento específico. Esse produto não é facilmente distribuído nas regiões mais remotas do país, apresenta alto custo de produção, pode não atuar efetivamente sobre a sintomatologia local e por ser uma substância heteróloga pode causar no organismo, reações imunológicas como o desenvolvimento de alterações precoces ou tardias (doença do soro) (BRASIL, 2001).

Diante disso, diversas substâncias, de origem animal, vegetal ou mineral são comumente usadas de forma empírica como antiofídicas, na tentativa de elaborar tratamentos alternativos de baixo custo que efetivamente sejam capazes de reverter a sintomatologia causada pela peçonha (GOMES et al., 2016; MOTTA et al., 2017).

Entre as substâncias difundidas pela medicina popular como antiofídicas, no semiárido brasileiro, destaca-se a Creolina[®]. Esse produto comercial é utilizado de forma empírica em bovinos e pequenos ruminantes, com a finalidade de reverter o quadro causado pelo acidente ofídico envolvendo serpentes dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*. A Creolina[®] é administrada em pequena quantidade, em sua forma pura na língua do animal, imediatamente após a constatação do possível acidente. Atualmente essa prática é bastante difundida entre os fazendeiros e vaqueiros da Paraíba, fazendo desse o único recurso nos casos de acidentes ofídicos (dados não publicados).

A Creolina[®] é um produto comercial, considerada como desinfetante de uso veterinário. Possui em sua composição uma mistura de hidrocarbonetos derivados do alcatrão

de hulha ou “coal-tar”, cresóis e fenóis. Sendo utilizada como solução germicida, antisséptica e anti-helmíntica, como também para outros fins inespecíficos (STEFFEN et al., 2010; HAVERKOS et al., 2017).

Segundo o fabricante, este produto oferece riscos à saúde e os principais sintomas da intoxicação com Creolina[®] são: dor de estômago, cefaleia, dor e eritema na pele, dor nos olhos, efeitos narcóticos, náuseas, vômitos, diarreia e tremores. Sendo assim, este produto é taxado como: “Desinfetante veterinário combustível, perigoso para saúde humana” (INTERTOX, 2011).

A eficácia e o mecanismo de ação da Creolina[®] ainda não são totalmente esclarecidos, supõem-se que por ser um composto fenólico possa atuar inativando enzimas, desnaturando proteínas e alterando a permeabilidade seletiva da membrana dos microrganismos (JAIGOBIND et al., 2007).

Tais suspeitas associadas ao histórico do uso empírico, embasam a teoria de um possível efeito desse composto sobre o veneno botrópico. Diante disso e da necessidade de desenvolvimento de terapias alternativas de fácil acesso nos casos de acidentes ofídicos, objetiva-se com o presente estudo a pesquisa do potencial antiofídico da Creolina[®] frente à peçonha botrópica e a viabilidade do uso desse composto, a fim de fomentar estudos que desenvolvem protocolos alternativos de baixo custo e fácil acesso para os acidentes ofídicos.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Histologia Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e está de acordo com os princípios éticos e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPB (Certidão de aprovação n° 8447140518).

Foram utilizados animais da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, fêmeas adultas, com idade média de 16 semanas, pesando entre 170 a 220g, provenientes do Biotério Prof. Thomas George, Campus I da UFPB, João Pessoa-PB, o qual é credenciado no Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas de 40x50x20 cm, sob temperatura controlada (22-24°C) e ciclo natural de luz (12/12hs). Água e ração comercial seca (Purina – Roedores) foram fornecidas *ad libitum*.

As amostras de peçonhas liofilizadas de *Bothrops jararaca* (Bja – Lote 01/08-10), foram fornecidas pelo Instituto Butantan, Brasil. O veneno foi mantido a -20°C e no momento do uso, pesado e dissolvido em solução salina estéril chegando a concentração de 1 mg/ml. A inoculação do veneno foi feita no terço médio da face lateral do membro posterior direito dos animais, na dose de 3,2 mg/kg de peso vivo por via intramuscular, após tricotomia e antissepsia do local. A dose preconizada neste estudo foi determinada em experimento piloto, onde foram inoculadas doses crescentes da mesma amostra do veneno em ratos Wistar por via intramuscular, com o objetivo de determinar a menor dose capaz de desencadear sintomatologia local e sistêmica condizente com a inoculação natural, sem óbito, após 36 horas.

Por não haver conhecimento a respeito da dose da Creolina[®] utilizada de modo empírico pelos produtores, foi estabelecido inicialmente neste estudo a avaliação com a dose padrão de 0,3ml/kg. Volume proporcional a forma de administração consolidada na medicina popular para bovinos e pequenos ruminantes, sem fundamentação científica.

Os animais foram pesados, identificados por números cardinais e distribuídos aleatoriamente em sete grupos compostos por cinco animais. O primeiro grupo recebeu solução salina estéril, de modo a compor o grupo controle, identificado como “Controle”. Um

grupo recebeu apenas a peçonha botrópica a partir do método anteriormente descrito, outro apenas a Creolina[®] por via intramuscular, compondo grupos que objetivavam avaliar os efeitos isolados dos compostos, identificados respectivamente como “Bj” e “imC”. Os grupos seguintes receberam a peçonha botrópica e imediatamente após a inoculação foram tratados com Creolina[®] por via oral (administração sobre a língua), via tópica (aplicação com gaze estéril sobre a região de inoculação do veneno) e por via intramuscular, em seguida foram identificados respectivamente como: “Bj+voC”, “Bj+vtC” e “Bj+imC”. O último grupo recebeu a mistura das doses de Creolina[®] e peçonha botrópica por via intramuscular e foi identificado como: imBj+C.

Após as administrações (hora zero) os animais foram avaliados clinicamente a cada uma hora, durante oito horas (hora 8), usando adaptações no modelo de avaliação utilizado por MOTTA et al. (2017). Após o fim da avaliação clínica, foi realizada anestesia de todos os animais com a mistura de xilazina (10mg/kg) e cetamina (75mg/kg) por via intraperitoneal e as amostras de sangue foram coletadas por cardiocentese, como preconiza o CONCEA (CONCEA, 2015). Em seguida realizou-se a eutanásia com a adição de metodologia complementar (exsanguinação) e necropsia com coleta de fragmentos de coração, baço, fígado, rins, tecido nervoso (córtex) e tecido muscular de cada animal, utilizando formol 10% como solução fixadora.

O processamento das amostras de sangue foi realizado pelo analisador hematológico veterinário pocH-100iV Diff SYSMEX. A dosagem do fibrinogênio plasmático foi realizada pela técnica de precipitação pelo calor e a proteína plasmática total determinada por refratometria, seguindo a metodologia do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFPB, onde os exames foram realizados. Os fragmentos dos tecidos foram submetidos ao processamento histológico padrão de acordo com o protocolo utilizado pelo

Laboratório de Histologia Animal da UFPB e posterior análise histopatológica em microscopia de luz utilizando o microscópio modelo Zeiss Axio Scope A1. Foram utilizadas adaptações no modelo usado por GOIS et al. (2016) para avaliação histopatológica, sendo classificadas de acordo com o seguinte escore: **ausente** (-), quando não houver alterações; **leve** (+), quando afetar até 30% da área avaliada; **moderada** (++) , quando afetar de 30% a 70% e **intensa** (+++), quando afetar mais de 70% da área.

Os valores hematológicos foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e em seguida comparados utilizando o teste de Tukey, considerando a margem de significância de 5%. A avaliação estatística foi realizada no software “RStudio” versão 1.0.136.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após administração dos compostos e início da avaliação (hora zero), todos os animais que receberam a peçonha, independentemente da via de administração da Creolina[®], apresentaram prostração, relutância ao movimento e desconforto ao movimentar o membro, provavelmente devido aos efeitos locais miotóxicos, coagulantes e hemolíticos do veneno botrópico (YAMASHITA, 2013).

Nos animais dos grupos Controle, imC, Bj+imC e Bj, não houve alterações motoras nem do estado de consciência durante a avaliação, no entanto, os animais dos grupos que tiveram contato com o veneno e a Creolina[®] por via oral e tópica, além da mistura por via intramuscular, apresentaram graus de sedação variáveis e espasmos musculares involuntários que persistiram por duas horas após a inoculação. Dois animais do grupo Bj+vtC, desenvolveram sinais neurológicos graves seguidos de coma e óbito duas horas após a aplicação da Creolina[®] por via tópica no local da inoculação da peçonha (Tabela 1). A alteração do estado mental, coma e óbito, além dos episódios de mioclonia dos animais

corroboram o potencial tóxico da Creolina[®] como causador de sonolência, vertigem e tremores entre outros efeitos neurológicos, descritos na Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico (INTERTOX, 2011). Tais características sinalizam para a cautela em seu uso empírico, podendo causar alterações indesejáveis e maléficas à saúde animal, além de acidentes envolvendo a exposição cutânea em humanos (VEARRIER et al., 2015).

Todos os animais que tiveram contato com a peçonha botrópica, independente da administração de Creolina[®], apresentaram urina de cor vermelho escuro, provavelmente devido aos efeitos hemolíticos e miotóxicos do veneno (Tabela 1). A avaliação histopatológica confirma o efeito danoso do veneno sobre o sistema renal da vítima (degeneração hidrópica, necrose tubular aguda, presença de cilindros hialinos e granulosos), com pouca variação entre os grupos (Tabela 2). A presença de cilindros hialinos e granulosos na luz dos túbulos renais foi evidente em todos os animais experimentados, exceto o grupo controle. Os animais do grupo imBj+C apresentaram uma leve diminuição da proporção de cilindros hialinos quando comparado aos demais, sendo essa alteração classificada como moderada (++). A presença de necrose tubular e degeneração hidrópica nos grupos Bj e Bj+voC sugerem uma lesão glomerular com perda de proteína, corroborando os achados de MOTTA et al. (2017) e TAKAHIRA (1999), os quais encontraram alterações semelhantes nos estudos com veneno botrópico em ratos e cães, respectivamente.

Após duas horas de avaliação os animais que receberam o veneno e em seguida a Creolina[®] por diferentes vias, apresentaram musculatura enegrecida, com aspecto friável e hemorrágico além de edema progressivo no local da inoculação (coxa direita), onde o veneno parece ter se difundido (Figura 1B, C). Histologicamente, a musculatura apresentou hemorragia e edema graves, com degeneração hialina das fibras musculares (Tabela 2). A extremidade do membro não foi acometida. Essa alteração persistiu até o fim da avaliação

clínica (hora 8), corroborando os efeitos locais encontrados nos casos naturais e experimentais da inoculação do veneno botrópico em animais (YAMASHITA, 2013; GOMES et al., 2016; MOTTA et al., 2017). Os animais dos grupos imC e imBj+C não apresentaram alterações hemorrágicas ou necróticas, apenas edema progressivo da região de inoculação até o final da avaliação, no entanto, histologicamente foi evidente a infiltração de neutrófilos na região de inoculação dos compostos, possivelmente devido a inoculação de um composto fenólico altamente imunorreativo e não formulado para administração injetável (Figura 1A, D).

Foi realizada a necropsia de todos os animais, não havendo alterações macroscópicas. A avaliação histopatológica das amostras de baço, fígado, coração e tecido nervoso não evidenciaram alterações dignas de nota, achados que sugerem a incapacidade da peçonha e da Creolina[®], em causar lesões nestes tecidos de forma aguda (após oito horas), resultados condizentes com a fisiopatogenia do veneno botrópico relatada na literatura (YAMASHITA, 2013; SENISE et al., 2015). Quanto aos efeitos tóxicos da Creolina[®], estudos mais específicos são necessários, pois devido seu potencial conhecidamente tóxico para alguns sistemas (INTERTOX, 2011), alterações histopatológicas poderão surgir com um maior tempo de exposição.

Em relação aos achados hematológicos, houve diferença significativa quanto aos valores leucocitários dos grupos que receberam o veneno botrópico e foram tratados em relação ao Controle e o grupo Bj (Tabela 3), o que corrobora os estudos sobre os efeitos hematológicos do veneno botrópico, que demonstram um quadro de leucocitose (MOTTA et al., 2017).

Os animais que tiveram contato com o veneno apresentaram redução do número total de hemácias; hemoglobina e hematócrito, diferentemente do grupo que recebeu apenas a Creolina[®] os quais não desenvolveram tais alterações. Os parâmetros hematológicos foram

expressos na Tabela 3. Tais achados podem estar associados à presença de hemorragia no membro posterior direito, local da inoculação da peçonha botrópica e sinalizar para incapacidade da Creolina[®] em reverter a atividade hemorrágica e miotóxica da peçonha.

As plaquetas e os fatores de coagulação são os principais relacionados com o mecanismo de ação do veneno botrópico. Diversos componentes contidos na peçonha causam distúrbios na função plaquetária e plaquetopenia. A plaquetopenia causada pelo veneno é temporária, já sua ação sobre os mecanismos que envolvem a agregação é duradoura (SANTORO et al., 2004; YAMASHITA, 2013). Neste experimento os animais que tiveram contato com o veneno e foram tratados com a Creolina[®] tiveram uma contagem significativamente menor de plaquetas quando comparados aos valores do grupo Controle, imC e imBj+C (Tabela 3), além da presença de agregação em todas as amostras, semelhante aos efeitos do veneno botrópico encontrados na literatura (MOTTA et al., 2017).

Nos animais onde foi administrada a mistura de veneno e Creolina[®], não foi desenvolvido a sintomatologia condizente com a ação da peçonha botrópica. Sugerindo uma possível ação direta da Creolina[®] sobre a peçonha, provavelmente devido a desnaturação parcial dos seus componentes bioativos. Contudo, esse composto é altamente tóxico aos sistemas orgânicos e não apresentou atividade antiofídica quando administrado separadamente, independentemente da via de administração. Sendo assim, mais estudos são necessários para comprovar e avaliar o potencial antiofídico do produto, além de sua viabilidade como recurso terapêutico.

CONCLUSÃO

A Creolina[®] apresenta capacidade de inibir o desenvolvimento da sintomatologia local quando misturada à peçonha de *Bothrops jararaca*. No entanto, isoladamente não

apresenta propriedades úteis ao tratamento do envenenamento botrópico, além de apresentar efeitos adversos potencialmente tóxicos aos animais, devido a sensibilidade variável entre as espécies.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB), protocolo nº 8447140518.

DECLARAÇÃO DE CONFLITOS DE INTERESSE

Sem conflitos de interesse para declarar.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos**. Brasília, 2001. 120p.

CONCEA. **Diretriz da Prática de Eutanásia do CONCEA**. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Anexo 1, Brasília-DF. 2015.

GOIS, P.H.F. et al. Allopurinol attenuates rhabdomyolysis-associated acute kidney injury: renal and muscular protection. **Free Radical Biology and Medicine**, v.101, p.176-189, 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27769920>>. Acesso em: 09 nov. 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.10.012>.

GOMES, J.A.S. et al. Aqueous Leaf Extract of *Jatropha mollissima* (Pohl) Bail decreases local effects induced by bothropic venom. **BioMed Research Internacional**, v.2016, p.1-13,

2016. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/6101742/>>. Acesso em: 02 fev. 2018. doi: [10.1155/2016/6101742](https://doi.org/10.1155/2016/6101742).

HAVERKOS, H.W. et al. Co-carcinogenesis: Human papillomaviruses, Coal tar derivatives, and Squamous Cell Cervical Cancer. **Frontiers in Microbiology**, v.8, p.1–6, 2017. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.02253/full>>. Acesso em: 09 jul. 2018. doi: [10.3389/fmicb.2017.02253](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02253).

INTERTOX. **Ficha de informações de segurança de produto químico (FISPQ - Creolina 100ml)**. Eurofarma Laboratórios LTDA., Rio de Janeiro-RJ, p.1-14, 2011. Disponível em: <<http://www.intertox.com.br>>. Acesso em: 21 mar. 2018.

JAIGOBIND, A.G.A. et al. Desinfetante doméstico – Dossiê técnico. **Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas – SBRT**. Instituto de Tecnologia do Paraná. p.23, 2007. Disponível em: <<http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/MjY1>>. Acesso em: 11 ago. 2018.

MOTTA, Y.P. et al. Effects of *Mikania glomerata* leaf extract on experimental *Bothropoides jararaca* envenomation in Wistar Rats. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.45, n.1464, p.1-6, 2017. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/actavet/45/PUB%201464.pdf>>. Acesso em: 13 ago. 2018. doi: [10.22456/1679-9216.80252](https://doi.org/10.22456/1679-9216.80252).

SANTORO, M.L. et al. Platelet dysfunction during *Bothrops jararaca* snake envenomation in rabbits. **Thrombosis Haemostasis**, v.92, n.2, p.369-9, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15269834>>. Acesso em: 26 jun. 2018. doi: [10.1160/TH04-02-0120](https://doi.org/10.1160/TH04-02-0120).

SENISE, L.V. et al. *Bothrops jararaca* envenomation: Pathogenesis of hemostatic disturbances and intravascular hemolysis. **Experimental Biology and Medicine**, v.240, p.

1528-1536, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC493530>>.

Acesso em: 10 mar. 2018. doi: 10.1177/1535370215590818.

STEFFEN, R.B. et al. Efeitos da Creolina sobre a nematofauna associada a cultura do fumo.

Tecno-lógica, v.14, n.1, p.20-25, 2010. Disponível em:

<<https://online.unisc.br/seer/index.php/tecnologica/article/view/1267>>. Acesso em: 2 fev.

2018. doi: 10.17058/tecnolog.v14il.1267.

TAKAHIRA, R.K. **Perfil hematológico, hemostático, bioquímico e histopatológico do**

envenenamento experimental de cães por *Bothrops alternatus* Duméril, 1854 e *Bothrops*

***moojeni* Hoge, 1966.** 1999. 195f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e

Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP.

VEARRIER, D. et al. Phenol toxicity following cutaneous exposure to Creolin®: A case

report. **Journal of Medical Toxicology**, v.11, p.227-231, 2015. Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25326371>>. Acesso em: 10 out. 2018. doi:

10.1007/s13181-014-0440-1.

YAMASHITA, K.M. **Patogênese dos distúrbios hemostáticos sistêmicos induzidos pelo**

veneno da serpente *Bothrops jararaca*. 2013. 99f. Dissertação (Mestrado) – Programa de

Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo,

São Paulo-SP.

Tabela 1 - Alterações clínicas identificadas e seus intervalos de tempo em grupo de ratas Wistar após envenenamento botrópico experimental (*Bothrops jararaca*) e tratamento com Creolina[®] por diferentes vias de acesso.

Alterações	Controle	imC	Bj	Bj+voC	Bj+vtC	Bj+imC	imBj+C
Claudicação	Ausente	0h-3h	0h-8h	0h-8h	0h-8h	0h-8h	0h-8h
Prostração	Ausente	Ausente	0h-5h	0h-4h	0h-3h	0h-4h	0h-4h
Mioclonia	Ausente	Ausente	Ausente	0h-2h	0h-2h	Ausente	0h-2h
Hemorragia	Ausente	Ausente	1h-8h	2h-8h	2h-8h	01-8h	Ausente
Dor	0h-1h	0h-2h	0h-8h	0h-8h	0h-8h	0h-8h	0h-8h
Urina Escura	Ausente	Ausente	1h-8h	2h-5h	2h-5h	2h-5h	2h-3h
Anorexia	0h-1h	0h-3h	0h-5h	0h-5h	0h-3h	0h-4h	0h-5h
Morte	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	0/5	0/5

Tabela 2 - Alterações histopatológicas renais e musculares em ratas Wistar após envenenamento botrópico experimental (*Bothrops jararaca*) e tratamento com Creolina[®] por diferentes vias de acesso.

Alterações	Controle	imC	Bj	Bj+voC	Bj+vtC	Bj+imC	imBj+C
Renais							
Cilindros granulosos	-	-	+++	+++	+++	+++	++
Cilindros hialinos	-	-	++	+++	+++	+++	+
Degeneração hidrópica	-	-	+	+	+	+	-
Necrose de túbulos	-	-	++	+	-	+	-
Musculares							
Hemorragia	-	-	+++	+++	+++	++	-
Edema	-	++	+++	+++	++	++	+
Infiltrado neutrofílico	-	+++	-	-	++	+	+++
Degeneração hialina	-	-	+	+	-	+	-

Tabela 3 - Valores hematológicos de ratas Wistar, oito horas após envenenamento botrópico experimental (*Bothrops jararaca*) e tratamento com Creolina[®] por diferentes vias de acesso (*). Valores expressos em médias \pm desvio padrão.

Hemograma	Controle (n=5)	imC (n=4)	Bj (n=5)	Bj+voC (n=4)	Bj+vtC (n=3)	Bj+imC (n=5)	imBj+C (n=4)
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	5,2 \pm 0,9b	7,8 \pm 1,7ab	9,5 \pm 1,3a	6,9 \pm 0,7ab	5,2 \pm 0,9b	7,3 \pm 2,3ab	6,2 \pm 0,2b
Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	7,2 \pm 0,4ab	7,5 \pm 0,7a	6,6 \pm 0,5abc	4,6 \pm 0,4d	4,9 \pm 0,2d	6,0 \pm 0,3c	6,3 \pm 0,2bc
Hemoglobina (g/dL)	15,2 \pm 1,0a	15,8 \pm 0,5a	13,4 \pm 1,0b	9,5 \pm 0,9c	9,2 \pm 0,4c	12,2 \pm 0,6b	13,1 \pm 0,3b
Hematócrito (%)	42,0 \pm 2,6ab	45,2 \pm 1,2a	37,3 \pm 2,6c	26,7 \pm 3,0d	28,1 \pm 0,2d	34,1 \pm 1,8c	38,0 \pm 1,0bc
Proteína Plasmática (g/dL)	6,4 \pm 0,2a	6,7 \pm 0,3a	5,2 \pm 0,3c	5,6 \pm 0,1bc	5,3 \pm 0,3bc	5,2 \pm 0,3c	6,0 \pm 0,1ab
Fibrinogênio (mg/dL)	225,0 \pm 125,8a	225,0 \pm 50,0a	100,0 \pm 89,4a	100,0 \pm 115,5a	66,6 \pm 115,5a	140,0 \pm 260,8a	160,0 \pm 167,3a
Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	704,3 \pm 135,3a	840,5 \pm 82,1a	13,6 \pm 6,9b	77,2 \pm 61,7b	88,3 \pm 31,3b	11,0 \pm 4,0b	838,0 \pm 209,6a

* Médias na mesma linha, seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

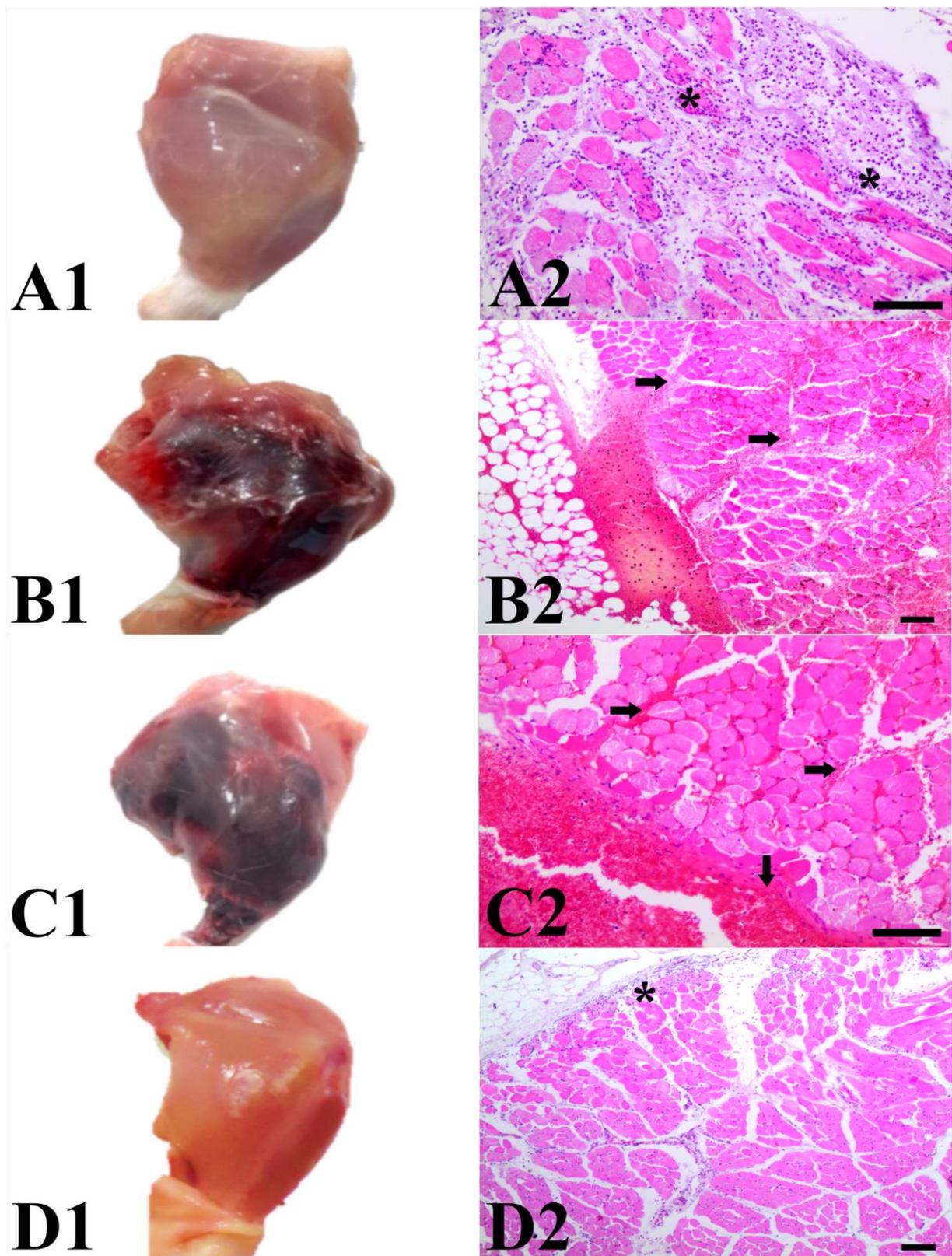


Figura 1: Avaliação macroscópica e microscópica dos membros posteriores direitos de ratas Wistar após envenenamento botrópico experimental (*Bothrops jararaca*) e tratamento com

Creolina[®]. A1) Imagem fotográfica da face lateral direita do membro inoculado apenas com Creolina[®] por via intramuscular. A2) Fotomicrografia da região de inoculação da Creolina[®] com evidente infiltrado neutrofílico (*). Coloração Hematoxilina-Eosina. Barra: 200 micrômetros. B1) Imagem fotográfica da face lateral direita do membro inoculado apenas com veneno botrópico por via intramuscular apresentando aspecto friável, edema e hemorragia. B2) Fotomicrografia da região de inoculação do veneno com hemorragia difusa (setas). Coloração Hematoxilina-Eosina. Barra: 100 micrômetros. C1) Imagem fotográfica da face lateral direita do membro inoculado com veneno botrópico e em seguida Creolina[®] por via intramuscular, apresentando aspecto friável, edema e hemorragia similares a inoculação apenas da peçonha. C2) Fotomicrografia da região de inoculação do veneno e em seguida Creolina[®] por via intramuscular com hemorragia difusa (setas). Coloração Hematoxilina-Eosina. Barra: 200 micrômetros. D1) Imagem fotográfica da face lateral direita do membro inoculado com a mistura de veneno + Creolina[®] por via intramuscular. D2) Fotomicrografia da região de inoculação da mistura de veneno + Creolina[®] por via intramuscular com presença de infiltrado neutrofílico (*). Coloração Hematoxilina-eosina. Barra: 100 micrômetros.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento das lesões causadas pela inoculação da peçonha de animais venenosos, especialmente as serpentes, ainda constitui um grande desafio para médicos e médicos veterinários de todo o mundo. Apesar da produção e validação da soroterapia como tratamento específico, sua utilização apresenta limitações significativas e muitas vezes inviáveis para maioria da população, especialmente a parcela que reside das áreas mais remotas do país.

Na medicina veterinária, a situação é ainda mais delicada, além da susceptibilidade e reação a terapia ser muito variável entre as espécies, em muitos casos o fator econômico inviabiliza o tratamento específico. Sendo utilizado nessas situações, terapias alternativas fundamentadas na sabedoria popular como única tentativa de reverter os quadros causados pelos acidentes ofídicos.

Dentre muitas substâncias utilizadas de forma empírica para este fim, principalmente a base de plantas, nenhuma aparece como terapia validada e indicada pelos órgãos de saúde do país. Situação que sinaliza para periculosidade no uso de substâncias diversas para tratamento ofídico.

A Creolina[®], é um dos compostos utilizados pelo conhecimento popular no tratamento de acidentes envolvendo serpentes, essa prática pode estar relacionada com erros diagnósticos por parte dos produtores. Por não haver sinais clínicos claros no acidente ofídico, outros sinais causados por diversas condições patológicas, podem ser confundidos e diagnosticados erroneamente como acidente ofídico.

Dessa forma, em bovinos e pequenos ruminantes, mesmo frente a um diagnóstico presuntivo é instituído o tratamento alternativo (Creolina[®]), sem a consulta com especialistas veterinários. Este produto administrado em sua forma pura, em quantidade pequena sobre a língua do animal, pode supostamente reverter o quadro clínico momentâneo, perpetuando a suposição de que este composto apresente ação antiofídica.

Diante do exposto e das condições metodológicas as quais esse estudo foi realizado, não há evidências que justifiquem sua indicação como substância antiofídica, além disso devido seu potencial tóxico, sua utilização indevida é contraindicada.

ANEXOS

ANEXO I - Certificado de aprovação CEUA/UFPB



Universidade
Federal da
Paraíba

Comissão de Ética no
Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Ação antiotfídica da Creolina® frente a peçonha de Bothrops jararaca em ratos: Aspectos clínicos, hematológicos e histopatológicos", protocolada sob o CEUA nº 8447140518 (ID 000254), sob a responsabilidade de **Ricardo Romão Guerra** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 06/07/2018.

We certify that the proposal "Antiphidic action of Creolina® against bothrops jararaca venom in rats: clinical, hematological and histopathological aspects", utilizing 32 Heterogenics rats (males or females), protocol number CEUA 8447140518 (ID 000254), under the responsibility of **Ricardo Romão Guerra** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 07/06/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **08/2018** a **11/2018** Área: **Zootecnia**

Origem: **Unidade de Produção Animal IPeFarM**

Espécie: **Ratos heterogênicos** sexo: **Machos ou Fêmeas** idade: **4 a 5 semanas** N: **32**

Linagem: **Rattus Norvegicus - Wistar** Peso: **300 a 400 g**

Local do experimento: Laboratório de Histologia Animal - Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal da Paraíba

João Pessoa, 12 de agosto de 2018

Profa. Dra. Islania Gisela Albuquerque Gonçalves
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba