

## AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO ANTIVENENO BOTRÓPICO ADMINISTRADO NO LOCAL DA INOCULAÇÃO INTRAMUSCULAR DO VENENO DE *BOTHROPS JARARACA*: ESTUDO EXPERIMENTAL EM CAMUNDONGOS

Carla Lillian AGOSTINI UTESCHER (1), Sílvia Lucia Paro VIEIRA (1), Sara FENSTERSEIFER (1), Lindíoneza Adriano RIBEIRO (2) & Miguel Tanús JORGE (3).

### RESUMO

Foi determinada, em camundongos de 18 a 20 g, a dose efetiva 50% do antiveneno botrópico, por via intraperitoneal (ip), imediatamente (DE50 0h) e 30 minutos (DE50 30') após a inoculação de 2 DL50 do veneno de *B. jararaca*, por via intramuscular (im). A DE50 30' foi três vezes maior do que a DE50 0h. A eficácia do antiveneno administrado no local da inoculação do veneno foi avaliada inoculando-se duas DL50 do veneno, por via im, e administrando-se a DE50 do antiveneno imediatamente (DE50 0h) e 30 minutos após (DE50 30'), de duas formas a saber: totalmente por via ip (1ª) e metade por via ip e metade por via im (2ª), no mesmo local da inoculação do veneno. O antiveneno ofereceu, por via ip, maior proteção aos camundongos (menor taxa de óbito em 48 horas) do que quando metade do mesmo foi administrado, por via im, no local da inoculação do veneno. Conclui-se que, neste modelo experimental, quando se inicia o tratamento tardiamente há necessidade de maior dose de antiveneno botrópico e que não há benefício em administrá-lo no local da picada.

**UNITERMOS:** *Bothrops jararaca*; Veneno; Antiveneno; DL50; DE50.

### INTRODUÇÃO

No início deste século, poucos anos após a produção por Calmette (Paris - 1886) do primeiro soro heterólogo para uso terapêutico no envenenamento por serpente (*Naja naja*), Vital Brazil produziu, em São Paulo (Instituto Butantan), soros heterólogos contra venenos de *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus terrificus*<sup>2,4</sup>. Nesta ocasião recomendou sua utilização por via subcutânea (sc). Em publicação de 1949, FONSECA recomendou, em alguns casos, a inoculação do soro no local da picada<sup>3</sup>. ROSENFELD, entretanto, contra-indicou este

procedimento em caso de acidente por *Bothrops* por considerar que ocorreria aumento da incidência de necrose<sup>12</sup>.

Em 1981, publicação da Organização Mundial de Saúde recomendou a administração do antiveneno por via endovenosa (ev)<sup>14</sup>. Recentemente, no Brasil, as publicações oficiais têm recomendado a administração dos soros antiofídicos, preferencialmente, apenas por via ev<sup>7,13</sup>. Como os venenos botrópicos e crotálicos têm

Trabalho realizado na Seção de Controle de Qualidade do Instituto Butantan.

Dados parcialmente apresentados no IV<sup>th</sup> Pan American Symposium on Animal, Plant and Microbial Toxins and Ind. Symposium of the Brazilian Society on Toxinology. Campinas - SP, Brazil, 1992.

(1) Seção de Controle de Qualidade do Instituto Butantan, São Paulo.

(2) Centro de Vigilância Epidemiológica (Comissão Permanente de Coordenação para o Controle dos Acidentes por Animais Peçonhentos), São Paulo.

(3) Departamento de Clínica médica do Centro de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais.

Endereço para correspondência: Miguel Tanús Jorge, Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal de Uberlândia. Av. Pará 1720, Campus Umuarama CEP 38400-902, Uberlândia, MG, Brasil.

maior probabilidade de serem inoculados na vítima humana por via intramuscular (im) e/ou sc, uma vez que *Bothrops* e *Crotalus* são serpentes solenóglifas, recentemente se testou, em camundongos, a eficácia da administração do antiveneno crotálico por via im, no mesmo local da inoculação também im do veneno de *C. d. terrificus*. Observou-se que a administração de todo o soro por via ip levava a melhores resultados do que quando parte do soro era administrada no local da inoculação da peçonha <sup>9</sup>.

A intensa destruição tecidual, trombozes de pequenos vasos e hemorragias que ocorrem no envenenamento botrópico<sup>5,6,12</sup>, entretanto, podem dificultar a absorção do veneno e a difusão do soro administrado por via ev ou ip.

O presente trabalho pretende avaliar, em camundongo, a eficácia da administração do soro antibotrópico por via im, no mesmo local da inoculação, também im, do veneno de *B. jararaca*.

## MATERIAL E MÉTODO

### Material

Veneno referência de *B. jararaca* produzido pelo Instituto Butantan (IB), distribuído pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), com DL50 de 77,00 µg previamente determinada em camundongos de 18 a 20g, por via im <sup>1</sup>.

Antiveneno botrópico, lote 8905132, produzido pelo IB.

Agulha e seringa apropriadas para injeção intradérmica ("agulha e seringa de tuberculina").

Camundongos brancos (*Mus musculus*) de 18 a 20g, sem distinção quanto a sexo, provenientes do biotérico central do IB.

### Método

Com o objetivo de comparar a sobrevivência dos camundongos após 48 horas de observação, quando se administrava o antiveneno totalmente por via ip ou parte por via ip e parte por via im no local da inoculação de 2 DL50 do veneno imediatamente e 30 minutos após esta inoculação, realizaram-se os seguintes experimentos.

1 - Determinação da dose efetiva 50% do antiveneno "in vivo" administrado por via intraperitoneal imediatamente (DE50 0h) e 30' após (DE50 30') a inoculação im de 2 DL50 do veneno.

1-1. A DE50 0h foi determinada através da administração, a grupos de 8 camundongos (total de 40 camundongos sendo 8 para o controle do veneno), de diferentes volumes do antiveneno por via intraperitoneal, imediatamente após a inoculação de 2 DL50 do veneno por via intramuscular.

1-2. A DE50 30' foi determinada da mesma forma, com o mesmo número de camundongos, porém administrando-se o antiveneno 30 minutos após a inoculação do veneno.

2 - Determinação da eficácia da administração do antiveneno por via intramuscular, no mesmo local, imediatamente (DE50 0h) e 30' após (DE50 30') a inoculação de 2 DL50 im do veneno.

2-1. Imediatamente após a inoculação por via im, de duas DL50 do veneno, a DE50 0h do antiveneno foi administrada totalmente por via ip (40 camundongos) e 1/2 por via ip e 1/2 por via im no local da inoculação do veneno. (40 camundongos).

2-2. Trinta minutos após a inoculação por via im, de duas DL50 do veneno, a DE50 30' do antiveneno foi administrada totalmente por via ip (40 camundongos) e, 1/2 por via ip e 1/2 por via im no local da inoculação do veneno (40 camundongos).

O controle da atividade do veneno foi realizado inoculando-se duas DL50 do veneno, por via im, em 40 camundongos que não receberam antiveneno.

As injeções nos camundongos foram realizadas por via im, na face externa da coxa e, por via ip, através da parede abdominal, após antisepsia da pele.

A DE50 0h e a DE50 30' foram calculadas pelo método estatístico de probitos e, para comparar os resultados obtidos com o antiveneno administrado somente por via ip com aqueles obtidos com sua administração por via ip e im, foi realizada análise estatística através do teste do X<sup>2</sup>.

## RESULTADOS

1. As doses efetivas 50% do antiveneno "in vivo" administrado por via intraperitoneal imediatamente (DE50 0h) e 30 minutos após (DE50 30') a inoculação do veneno, foram de 0,01 ml e 0,03 ml, respectivamente (Tabelas 1 e 2).

TABELA 1

Determinação da dose efetiva 50% do antiveneno botrópico administrado por via intraperitoneal imediatamente após a inoculação de 2 DL50 im do veneno de *B. jararaca*.

Antiveneno (ml)	Veneno (DL)	Experimentos		
		I	II	III
0,0017	2	1/8	0/8	0/8*
0,0039	2	0/8	1/8	3/8
0,0088	2	4/8	5/8	3/8
0,0200	2	5/8	5/8	7/8
-	2	0/8	0/8	0/8**
DE50 (ml)		0,0125	0,0104	0,0079***

\* o denominador representa os camundongos do experimento e o numerador os que sobreviveram.; \*\* controle da atividade do veneno.; \*\*\* DE50 média foi de 0,0102 ml.

TABELA 2

Determinação da dose efetiva 50% do antiveneno botrópico administrado por via intraperitoneal 30 minutos após a inoculação de 2 DL50im do veneno de *B. jararaca*.

Antiveneno (ml)	Veneno (DL)	Experimentos		
		I	II	III
0,0039	2	1/8	0/8	2/8*
0,0088	2	2/8	0/8	1/8
0,0200	2	3/8	2/8	5/8
0,0450	2	6/8	5/8	5/8
-	2	0/8	0/8	0/8**
DE50 (ml)		0,0221	0,0357	0,0228***

\* o denominador representa os camundongos do experimento e o numerador os que sobreviveram.; \*\* controle da atividade do veneno.; \*\*\* DE50 média foi de 0,0268 ml.

2-1. Não houve diferença estatisticamente significativa nas taxas de mortalidade em 48 horas entre os dois grupos de camundongos que, imediatamente após a inoculação do veneno, receberam o antiveneno ( $p > 0,05$ ), embora houvesse tendência à maior sobrevivência entre os que o receberam somente por via ip em relação àqueles que o receberam também por via im (Tabela 3).

2-2. Nos camundongos que, 30 minutos após o veneno, receberam o antiveneno, houve maior proteção (menor taxa de mortalidade em 48 horas) no grupo que o recebeu apenas por via ip em relação àqueles que o receberam também por via im ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3).

## DISCUSSÃO

No Brasil, os acidentes por serpentes peçonhentas são causados principalmente pelo gênero *Bothrops*<sup>8</sup>. No Estado de São Paulo, onde o dado pode ser obtido com certa precisão, dentre 6.834 acidentes cujo diagnóstico foi realizado, 85,6% foram causados por *Bothrops*<sup>11</sup>. *B. jararaca* é responsável por quase todos os casos de acidente botrópico atendidos no Hospital Vital Brazil (HVB)<sup>10</sup>.

O único tratamento específico para o envenenamento botrópico é a administração do antiveneno, que deve ser realizada o mais precocemente possível. A via ev é a recomendada e a injeção no local da picada tem sido desaconselhada<sup>12</sup>. Não existem, entretanto, estudos comprovando a ineficácia da administração do antiveneno no local da inoculação do veneno de serpentes do gênero *Bothrops*.

Pelo presente estudo observa-se que, quando se administra o antiveneno 30 minutos após a inoculação do veneno, para se obter o mesmo efeito da sua administração imediatamente após, há necessidade de maior quantidade de antiveneno. Quando se administra a metade da DE50 do antiveneno por via im, no local da

TABELA 3

Resultados da administração da DE50 do antiveneno botrópico, imediatamente após e 30' após a inoculação im de duas DL50 do veneno de *Bothrops jararaca*, por via ip e, 1/2 por via ip e 1/2 im, no local da inoculação do veneno.

Ensaio	Sobreviventes	Óbitos	Total
Grupo experimental 1-1 (n = 40) 2DL50 im + DE50 0h ip	15	25	40
Grupo experimental 1-2 (n = 40) 2DL50 im + DE50 0h (1/2 ip + 1/2 im)	9	31	40*
Grupo experimental 2-1 (n = 40) 2DL50 im + DE50 30' ip	21	19	40
Grupo experimental 2-2 (n = 40) 2DL50 im + DE50 30' (1/2 ip + 1/2 im)	12	28	40**
Controle do veneno (n = 40)	00	40	40
<b>Total</b>	<b>57</b>	<b>143</b>	<b>200</b>

ip = intraperitoneal; im = intramuscular; DL50 - dose letal 50% do veneno por via im; DE50 = dose efetiva 50% do antiveneno por via ip, após inoculação de 2 DL50 do veneno, por via im.; \* Não houve diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).; \*\* Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

inoculação do veneno, trinta minutos após este procedimento, a sobrevivência dos camundongos é significativamente menor do que quando todo o volume é administrado por via ip. Vários, entretanto, sobreviveram. Em experimento anterior, quando o mesmo procedimento foi realizado com o veneno de *C. d. terrificus* e antiveneno crotálico<sup>9</sup>, nenhum camundongo do grupo que recebeu a metade do antiveneno por via im sobreviveu. Isto talvez se deva à diferença do veneno que, no caso do botrópico causa intensa destruição tecidual, o que pode dificultar a absorção do veneno inoculado e a difusão do antiveneno administrado por via ev.

A administração im do antiveneno imediatamente após a inoculação im do veneno, quando se presume que este não tenha sido completamente absorvido, também não levou a uma maior sobrevivência dos camundongos.

Apesar de se ter avaliado apenas a evolução para o óbito (que pode ter causa diferente no envenenamento do camundongo e do homem) e não se ter avaliado o edema ou outros sinais de lesão tecidual, os resultados deste trabalho confirmam as recomendações de que o soro antibotrópico deva ser administrado, como o anti-crotálico, apenas por via ev.

## SUMMARY

### Assessment of the efficacy of antivenom injection at the site of the intramuscular inoculation of *Bothrops jararaca* venom in mice

The 50% effective intraperitoneal (ip) dose of *Bothrops jararaca* antivenom (ED50) was assessed in mice immediately (ED50 Oh) and thirty minutes (ED50 30') after the intramuscular (im) injection of two 50% lethal dose (LD50) of *Bothrops jararaca* venom.

The efficacy of the antivenom injected at the venom inoculation site was assessed by the inoculation of two LD50 of the venom by im route, followed immediately (ED50 Oh) and 30 minutes later (ED50 30') by administration of the ED50 of the antivenom either entirely by the ip route or 50 percent ip plus 50 percent im, at the same inoculation site. It was shown that the ED50 30' was 3 times greater, than the ED50 Oh and that the antivenom was more protective to mice (lower death rate in 48 hours) when given entirely ip. It was concluded that, in this experimental model, a higher dose of bithropic antivenom is needed when the treatment is

started lately, and that there is no benefit in its administration at the venom inoculation site.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGOSTINI UTESCHER, C. L.; FENSTERSEIFER, S.; VIEIRA, S. L. P.; RIBEIRO, L. A. & JORGE, M. T. - The estimation of the efficacy of *Bothrops* antivenom administration immediately and thirty minutes after the inoculation of *B. jararaca* venom. *Toxicon*, 31: 107, 1993.
2. BRAZIL, V. - *A defesa contra o ophidismo*. São Paulo, Pocai & Weiss, 1911.
3. FONSECA, F. - *Animais peçonhentos*, São Paulo, Empresa Gráfica da Revista dos Tribunais, 1949.
4. HAWGOOD, B. J. - Dr. Vital Brazil and the advent of antivenomous serotherapy. *Toxicon*, 31: 137-138, 1993.
5. JORGE, M. T. & RIBEIRO, L. A. - Acidentes por animais peçonhentos. In: AMATO NETO, V. & BALDY, J. L. S., ed. - *Doenças transmissíveis*. 3. ed.. São Paulo, Sarvier, 1989. p. 133-141.
6. JORGE, M. T. & RIBEIRO, L. A. - Acidentes por serpentes peçonhentas do Brasil. *Rev. Ass. méd. bras.*, 36: 66-77, 1990.
7. MINISTÉRIO DA SAÚDE, CENTRO DE DOCUMENTAÇÃO DO MINISTÉRIO DA SAÚDE - *Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes ofídicos*. Brasília, 1987.
8. RESENDE, C. C.; ARAUJO, F. A. A. & SALLENAVE, R. N. U. R. - *Análise epidemiológica dos acidentes ofídicos*. Brasília, Ministério da Saúde; Secretaria Nacional de Ações Básicas de Saúde, 1989.
9. RIBEIRO, L. A.; AGOSTINI UTESCHER, C. L.; VIEIRA, S. L. P.; MUKUNO, H. & JORGE M. T. - Avaliação em camundongo da eficácia do antiveneno administrado no local da inoculação intramuscular do veneno de *Crotalus durissus terrificus*. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 35: 23-27, 1993.
10. RIBEIRO, L. A. & JORGE, M. T. - Epidemiologia e quadro clínico do acidente por *Bothrops jararaca* filhote e adulta. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 32: 436-442, 1990.
11. RIBEIRO, L. A.; PIRES DE CAMPOS, V. A. F.; ALBUQUERQUE, M. J. & TAKAOKA, N. Y. - Acidente ofídico no Estado de São Paulo. *Rev. Ass. méd. bras.*, 39: 4-7, 1993.
12. ROSENFELD, G. - Acidentes por animais peçonhentos; serpentes, aranhas e escorpiões. In: VERONESI, R., ed. - *Doenças infecciosas e parasitárias*. 8. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991. p. 951-962.
13. SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE - *Manual de vigilância epidemiológica: acidentes por animais peçonhentos, identificação, diagnóstico e tratamento*. São Paulo, 1993.
14. WORLD HEALTH ORGANIZATION - *Progress in the characterization of venoms and standardization of antivenoms*. Geneva, World Health Organization, 1981. (WHO-Offset publ. n. 55).

Recebido para publicação em 12/08/1993.

Aceito para publicação em 25/11/1993.