



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS DE PALMAS
PROGRAMA DE MESTRADO E DOUTORADO EM CIÊNCIAS DO AMBIENTE**

DEIZE CARNEIRO QUEIRÓS

**O Acidente Botrópico no Tocantins: perfil epidemiológico dos acidentados,
fatores ambientais facilitadores dos acidentes, toxicidade e neutralização do
veneno**

Palmas, TO

2020

DEIZE CARNEIRO QUEIRÓS

O Acidente Botrópico no Tocantins: perfil epidemiológico dos acidentados, fatores ambientais facilitadores dos acidentes, toxicidade e neutralização do veneno

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências do Ambiente da Universidade Federal do Tocantins, na linha de pesquisa Biodiversidade e Recursos Naturais.

Orientadora: Dra. Carla Simone Seibert

Palmas, TO

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CÂMPUS DE PALMAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO AMBIENTE

Quadra 109 Norte, Av. NS 15, ALCNO 14, Bloco III, Sala 19 | 77001-090 | Palmas/TO
(63) 3232-8177 | www.ufmt.edu.br/ppgciamb | selecao@ppgciamb@ufmt.edu.br



DEIZE CARNEIRO QUEIRÓS

O Acidente Botrópico no Tocantins: perfil epidemiológico dos acidentados, fatores ambientais facilitadores dos acidentes, toxicidade e neutralização do veneno

DATA APROVAÇÃO: 24/04/2020

BANCA EXAMINADORA:

NOME

Assinatura

Dra. Carla Simone Seibert

Dra. Gabriela O. Coelho Thomazi

Dra. Elineide Eugênio Marques

Dr. Heber Rogério Gracio
(Suplente)

DECISÃO FINAL:

APROVADO(A) (X)

REPROVADO(A) ()

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

Q3a Queirós, Deize Carneiro .

O Acidente Botrópico no Tocantins: perfil epidemiológico dos acidentados, fatores ambientais facilitadores dos acidentes, toxicidade e neutralização do veneno. / Deize Carneiro Queirós. – Palmas, TO, 2020.

70 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciências do Ambiente, 2020.

Orientador: Carla Simone Seibert

1. Perfil epidemiológico do acidente botrópico no Tocantins. 2. Relação da precipitação pluviométrica, temperatura do ar e umidade relativa do ar com o acidente botrópico. 3. Relação do avanço agropecuário com o acidente botrópico. 4. Toxicidade experimental do veneno de *Bothrops moojeni* e neutralização. I. Título

CDD 628

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "O Acidente Botrópico no Tocantins: epidemiologia, fatores ambientais facilitadores dos acidentes e toxicidade do veneno", protocolada sob o CEUA nº 6120021018 (00 931467), sob a responsabilidade de **Ida Siqueiro Sano Martins** e equipe; *Carla Simone Selbert; Delze Carneiro Queirós; Marcio Trevisan; Luís Roberto de Camargo Gonçalves* - 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 do Instituto Butantan (CEUAIB) na reunião de 21/11/2018.

We certify that the proposal "Bothrops snake envenoming in Tocantins state (North of Brazil): epidemiology, environmental factors and venom activities ", utilizing 135 Heterogenics mice (135 males), 34 Heterogenics rats (34 males), protocol number CEUA 6120021018 (00 931467), under the responsibility of **Ida Siqueiro Sano Martins** and team; *Carla Simone Selbert; Delze Carneiro Queirós; Marcio Trevisan; Luís Roberto de Camargo Gonçalves* - 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 Butantan Institute (CEUAIB) in the meeting of 11/21/2018.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de 01/2019 a 12/2022

Área: [Fisiopatologia](#)

Origem:	Biotério Central	sexo:	Machos	idade:	2 a 3 semanas	N:	135
Espécie:	Camundongos heterogênicos			Peso:	20 a 25 g		
Linhagem:	Swiss						
Origem:	Biotério Central	sexo:	Machos	idade:	2 a 3 semanas	N:	34
Espécie:	Ratos heterogênicos			Peso:	250 a 350 g		
Linhagem:	Wistar						

Local do experimento: Sala de experimentação animal do laboratório de Fisiopatologia.

São Paulo, 23 de novembro de 2018



Maria Leonor Sarno de Oliveira
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto Butantan



Nancy Ogulura
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto Butantan

Dedico este trabalho a minha família, meu bem maior, presente de Deus.

Aos meus filhos, Amália, Ian Carlos e Analia, obrigada pelo amor incondicional e compreensão e por tornarem minha vida completa.

Ao meu esposo, José Carlos Junior, obrigada pela cumplicidade e companheirismo.

A minha mãe Olívia, base de tudo na minha vida, obrigada pelos ensinamentos e oportunidades.

Aos meus maravilhosos irmãos (a), cunhados(a) e sobrinhos.

Amo vocês!!!

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Dra. Carla Simone Seibert, pelos ensinamentos, oportunidades, companheirismo, paciência e orientação;

Aos professores Dra. Ida Sigueko Sano-Martins e Dr. Luis Roberto de Camargo Gonçalves, pelo apoio e ensinamentos durante a realização do trabalho experimental;

Ao professor de estatística da UFT de Porto Nacional Dr. Rafael José de Oliveira, pelas dicas de estatística e excelentes ideias;

Aos Professores do Mestrado, pelos conhecimentos repassados;

As minhas colegas do Laboratório de Fisiopatologia do Instituto Butantan, Ana pelas dicas de estatística e Isabelle pelas ajudas diversas, e a todos do laboratório que me ajudaram de alguma forma;

Aos companheiros da pós-graduação CIAMB, que compartilham deste sonho, principalmente aos mais próximos, Cláudia, Leandro, Ulisses, Juliane, Raphael e Paulo Xerente pelas conversas incentivadoras e amizade;

Aos colegas da UFT - Porto, Patrícia, Ítalo, Márcio e Sarah, pelas contribuições no trabalho e pela força que me deram;

Ao meu amigo Sebastião pelo acolhimento em São Paulo;

As secretárias dos laboratórios, Izabel (UFT/Porto) e Neusa (IBu), pela disponibilidade e atenção a mim dedicadas;

Ao Instituto Butantan/SP pela oportunidade de realizar os experimentos no laboratório de Fisiopatologia, e pelo grande estímulo à formação de conhecimento em parcerias;

À secretaria de educação - SEDUC, e ao estado do Tocantins, pela liberação para o estudo;

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente, pela oportunidade e auxílios financeiros;

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente com este trabalho;

A DEUS... Muito Obrigada!

Esse trabalho foi contemplado com apoio financeiro pelo edital PPSUS 2018, FAPT/CNPq. E também, está vinculada ao projeto PROCAD 2013/CAPES, "Fortalecimento de programas de Pós-Graduação, na Amazônia e na Extra-Amazônia, com ênfase em envenenamentos ofídicos: uma estratégia de formação de pessoal e

interdisciplinaridade”, projeto realizado entre os programas de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente/UFT, Toxinologia/Instituto Butantan e Medicina Tropical/UEA.

**Quando as coisas vão erradas, não pense que todos os seus esforços tenham sido em vão,
talvez tudo foi para melhor, e por isso, sorria...
E experimente outra vez!**

**Pode ser que seu aparente fracasso venha a ser a porta mágica que o conduzirá para uma nova felicidade,
que antes você jamais imaginou**

**Você pode está enfraquecido pela luta, mas não se considere vencido... Isto não quer dizer derrota
Não vale a pena gastar o precioso tempo em lágrimas e lamentos
Levante-se, e enfrente a vida outra vez!**

**E se você guardar em mente o alto objetivo de suas aspirações, os seus sonhos se realizarão
Tire proveito dos seus erros, colha experiências das suas derrotas, e então, um dia você dirá:
-Eu ousei experimentar outra vez!**

Maria Olívia Carneiro de Araújo

RESUMO

QUEIRÓS, Deize Carneiro. **O Acidente Botrópico no Tocantins: perfil epidemiológico dos acidentados, fatores ambientais facilitadores dos acidentes, toxicidade e neutralização do veneno.** Dissertação (CIAMB). UFT - Universidade Federal do Tocantins, Tocantins, 2020.

O envenenamento causado por serpentes do gênero *Bothrops* representa cerca de 90% dos acidentes ofídicos em todo o Brasil e a serpente *Bothrops moojeni* é a principal espécie causadora dos acidentes no Tocantins. Por isso o objetivo desse estudo foi avaliar o perfil epidemiológico dos acidentados por serpentes do gênero botrópico, os fatores ambientais facilitadores do acidente, a toxicidade experimental de *Bothrops moojeni* para o estado do Tocantins e a neutralização desse veneno pelo antiveneno botrópico comercial. O perfil epidemiológico dos pacientes nos acidentes botrópicos buscou subsidiar o entendimento da dinâmica desse agravo, com dados de 2007 a 2019, obtidos a partir da plataforma TabWin-SINAN. Foi avaliada a correlação dos acidentes ofídicos com alguns dos fatores ambientais como precipitação pluviométrica, temperatura do ar, umidade relativa do ar e o avanço agropecuário, nas cidades de Araguaína, Palmas e Porto Nacional, a partir de dados disponíveis no IBGE e no INMET. Para avaliar a toxicidade do veneno de *Bothrops moojeni* e sua neutralização com antiveneno, foram testadas as atividades desfibrinogênica, edematogênica, hemorrágica, fibrinolítica, miotóxica e coagulante. Observou-se 7.906 acidentes botrópicos durante o período analisado, com aspecto epidemiológico clássico: o sexo masculino foi o mais acidentado (76,7%), a idade predominante foi de 20-59 anos (62,0%), com acidentes classificados como leve a moderado (89,6%) e 0,4% de óbitos. Araguaína foi a cidade que apresentou o maior número de acidentes (6,5%), seguido de Palmas (4,2%) e Porto Nacional (3,4%). As variáveis ambientais sazonais de temperatura do ar, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica foram determinantes na incidência desses acidentes, nas três cidades analisadas. Para o avanço agropecuário, houve correlação para Araguaína (produção de feijão, mandioca e milho) e Palmas (produção de feijão). O veneno da espécie *Bothrops moojeni* apresentou todas as características biológicas testadas e o antiveneno botrópico foi capaz de neutralizá-las. Portanto, a ocorrência do acidente botrópico, no estado do Tocantins, tem influência das condições ambientais e atinge a faixa etária mais ativa da população. O veneno de *Bothrops moojeni* apresentou características padrão encontradas nos venenos das outras jararacas, e o antiveneno foi validado para essa espécie, que ocorre no território tocantinense.

Palavras-chave: Acidente botrópico; *Bothrops moojeni*; Epidemiologia; Neutralização; Toxicidade.

ABSTRAT

QUEIRÓS, Deize Carneiro. **The Botropic Accident in Tocantins:** epidemiological profile of the victims, environmental factors that facilitate accidents, toxicity and neutralization of the poison. Dissertation (CIAMB). UFT - Federal University of Tocantins, Tocantins, 2020.

Poisoning caused by snakes of the *Bothrops* genus represents about 90% of snake accidents in Brazil and the *Bothrops moojeni* snake is the main species causing accidents in Tocantins. Therefore, the objective of this study was to evaluate the epidemiological profile of those injured by snakes of the botropic genus, the environmental factors that facilitate the accident, the experimental toxicity of *Bothrops moojeni* for the state of Tocantins and the neutralization of this poison by the commercial botropic antivenom. The epidemiological profile of patients in botropic accidents sought to support the understanding of the dynamics of this disease, with data from 2007 to 2019, obtained from the TabWin-SINAN platform. The correlation of snakebite accidents with some of the environmental factors was evaluated, such as rainfall, air temperature, relative humidity and agricultural progress, in the cities of Araguaína, Palmas and Porto Nacional, based on data available at IBGE and INMET. To evaluate the toxicity of *Bothrops moojeni* venom and its neutralization with antivenom, defibrinogenating, edematogenic, hemorrhagic, fibrinolytic, myotoxic and coagulant activities were tested. 7,906 cases of botropic accidents were observed during the analyzed period, with a classic epidemiological aspect: male was the most injured (76.7%), the predominant age was 20-59 years (62.0%), with accidents classified as mild to moderate (89.6%) and 0.4% of deaths. Araguaína was the city with the highest number of accidents (6.5%), followed by Palmas (4.2%) and Porto Nacional (3.4%). The seasonal environmental variables of air temperature, relative humidity and rainfall were determinant in the incidence of these accidents, in the three cities analyzed. For agricultural progress, there was a correlation for Araguaína (production of beans, cassava and corn) and Palmas (production of beans). *Bothrops moojeni* venom showed all the biological characteristics tested and botropic antivenom was able to neutralize them. Therefore, the occurrence of botropic accidents in the state of Tocantins has an influence on environmental conditions and affects the most active age group of the population. *Bothrops moojeni* venom showed standard characteristics found in other jararacas venoms, and the antivenom was validated for this species, which occurs in Tocantins territory.

Keywords: Botropic accident; *Bothrops moojeni*; Epidemiology; Neutralization; Toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Área de distribuição mundial das serpentes. Fonte: WHO (2014).....	18
Figura 2: Frequência anual dos acidentes ofídicos no Tocantins no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN, (2019).....	22
Figura 3: Acidentes com serpentes peçonhentas no Estado do Tocantins, segundo o gênero, no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN, (2019).....	22
Figura 4: Imagem e mapa de distribuição da espécie <i>Bothrops moojeni</i> , no Tocantins. Fonte: SILVA, (2017)	23
Figura 5: Dentição solenóglifa das serpentes do gênero <i>Bothrops</i> . Fonte: FUNED, (2014)	24
Figura 6: Número de acidentes causados pelo gênero <i>Bothrops</i> , segundo faixa etária e sexo, para o estado do Tocantins, no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN, (2019)	37
Figura 7: Gravidade e letalidade dos acidentes causados pelo gênero <i>Bothrops</i> , no estado do Tocantins, no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN, (2019)	38
Figura 8: Distribuição dos municípios com maior número de acidentes botrópicos, no período de 2007 a 2019, do estado do Tocantins. Fonte: SINAN, (2019)	40
Figura 9: Relação da média acumulada anual para a temperatura com os índices anuais de acidente botrópico, nos municípios de Araguaína e Palmas, no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN/INMET, (2019)	41
Figura 10: Relação da média acumulada anual da precipitação pluviométrica com os índices anuais de acidente botrópico, para as cidades de Araguaína, Palmas e Porto Nacional, no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN/INMET, (2019).....	42
Figura 11: Relação da média acumulada mensal da temperatura do ar e umidade relativa do ar com os índices mensais de acidente botrópico, nos municípios de Araguaína, Palmas e Porto Nacional, no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN/INMET, (2019).....	44

Figura 12: Relação da média acumulada mensal pluviométrica com os índices mensais de acidentes botrópicos, nas cidades de Araguaína, Palmas e Porto Nacional, do Estado do Tocantins, nos anos de 2007 a 2019.....	44
Figura 13: Determinação da Dose Mínima Hemorrágica pelo veneno de serpentes <i>Bothrops moojeni</i> . Curva dose-resposta de hemorragia induzida pelo veneno de serpentes <i>Bothrops moojeni</i>	48
Figura 14: Neutralização da atividade hemorrágica induzida pelo veneno de <i>Bothrops moojeni</i>	48
Figura 15: Perfil edematogênico induzido pelo veneno de serpentes <i>Bothrops moojeni</i>	49
Figura 16: Determinação da DME do veneno de <i>Bothrops moojeni</i> – curva dose-resposta de edema induzido por diferentes quantidades de veneno.....	50
Figura 17: Determinação da neutralização do edema do veneno de <i>Bothrops moojeni</i>	51
Figura 18: Atividade fibrinolítica do veneno de serpentes <i>Bothrops moojeni</i> em placa de fibrina-agarose.	52
Figura 19: Atividade miotóxica por dosagem de creatina quinase (CK).	53

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Distribuição geográfica das serpentes do gênero <i>Bothrops</i> , no Brasil	20
Tabela 2: Gravidade do acidente Botrópico e seus principais sinais clínicos.....	26
Tabela 3: Número de acidentes causados pelo gênero <i>Bothrops</i> atendidos nos municípios do estado do Tocantins, no período de 2007 a 2019	38
Tabela 4: Acidente botrópico segundo o mês do acontecimento nas cidades de Araguaína, Palmas e Porto Nacional, no período de 2007 a 2019	40
Tabela 5: Análise de correlação de Pearson para os coeficientes de incidência de acidente botrópico segundo variáveis agropecuárias nos municípios de Araguaína, Palmas e Porto Nacional - Tocantins, 2007-2018	43
Tabela 6: Determinação da Dose Mínima Coagulante (DMC), Dose Desafio e neutralização da atividade coagulante do veneno de <i>Bothrops moojeni</i> , em plasma de rato e fibrinogênio.....	45
Tabela 7: Determinação da dose mínima desfibrinogenante do veneno da serpente <i>Bothrops moojeni</i>	46
Tabela 8: Neutralização da dose mínima desfibrinogenante do veneno de <i>Bothrops moojeni</i>	46

LISTA DE SIGLAS

CEUAIB	Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Butantan
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
DE	Dose Efetiva
DMC	Dose Mínima Coagulante
DMC-P	Dose Mínima Coagulante sobre o Plasma
DMC-F	Dose Mínima Coagulante sobre o Fibrinogênio
DMD	Dose Mínima Desfibrinogenante
DME	Dose Mínima Edematogênica
DMH	Dose Mínima Hemorrágica
i.d.	Via Intradérmica
i.v.	Via Intravenosa
i.p.	Via Intraperitoneal
i.pl.	Via Intraplantar
SVMP	Metaloprotease
SVSP	Serino protease
ND	Não Disponível
NaCL	Cloreto de Sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
S.F.	Solução fisiológica
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
T.A	Temperatura Ambiente
<i>VBm</i>	Veneno de <i>Bothrops moojeni</i>
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 As serpentes e os acidentes ofídicos	176
1.2 O avanço agrícola no estado do Tocantins e o acidente botrópico	210
1.3 Atividade biológica do veneno botrópico	25
2 OBJETIVOS	28
2.1 Objetivo Geral	28
2.2 Objetivos Específicos	28
3 METODOLOGIA	29
3.1 Perfil epidemiológico do acidente botrópico no Tocantins	29
3.2 Relação da precipitação pluviométrica, temperatura do ar, umidade relativa do ar e avanço agropecuário com o acidente botrópico	29
3.3 Toxicidade experimental do veneno de <i>Bothrops moojeni</i> e neutralização	30
4 RESULTADOS	37
4.1 Perfil epidemiológico do acidentado por <i>Bothrops</i> no Tocantins	37
4.2 Relação da média acumulada anual da temperatura, precipitação e avanço agropecuário com o acidente botrópico	41
4.3 Relação da média acumulada mensal da umidade relativa do ar, temperatura do ar e precipitação pluviométrica com o acidente botrópico	43
4.4 Toxicidade experimental do veneno de <i>Bothrops moojeni</i>	45
5 DISCUSSÃO	54
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
7 REFERÊNCIAS	64

1 INTRODUÇÃO

Acidentes causados por animais peçonhentos provocam mortalidades, intoxicação e sequelas graves em todo o mundo. Entre os animais peçonhentos, serpentes, aranhas e escorpiões são os responsáveis pela maioria desses acidentes, e, entre esses, o ofidismo é de maior interesse para saúde pública por sua frequência e gravidade (WHO, 2014). De aproximadamente 3.000 espécies de serpentes conhecidas no mundo, 600 são peçonhentas e provocam um grande número de vítimas em acidentes ofídicos, cerca de 2,5 milhões em todo o mundo, e desses, aproximadamente 100.000 casos evoluíram para óbito (BERNARDE, 2014; NOGUEIRA *et al.*, 2019). O envenenamento causado por serpentes do gênero *Bothrops* no Brasil, representa cerca de 90% dos acidentes e é mais frequente na região Norte e Centro-Oeste do país. Espécies que pertencem a esse gênero, possuem grande variabilidade na produção de suas toxinas (THEAKSTON *et al.*, 2003; PINHO *et al.*, 2004; LIMA *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2014; BERNARDE *et al.*, 2015; LEOBAS *et al.*, 2016; PARISE, 2016; BRASIL, 2017; XIMENES *et al.*, 2018).

1.1 As serpentes e os acidentes ofídicos

A história evolutiva das serpentes tem cerca de 135 milhões de anos, possuem como característica a ausência de pernas, um corpo cilíndrico e alongado com escamas e a capacidade de abrir a mandíbula em um ângulo maior que 150° (BERNARDE, 2011). Pertencentes ao grupo Vertebrata, estão classificadas na classe Reptilia, subclasse Lepidosauria, na ordem Squamata e subordem Serpentes (MELGAREJO, 2009; NOGUEIRA *et al.*, 2019). Estão divididas em dois grupos básicos: as peçonhentas e as não peçonhentas. As serpentes peçonhentas produzem toxinas em glândulas especializadas e possuem aparelho apropriado para sua inoculação, cujas funções são imobilizar as presas, auxiliar na digestão e também utilizada como autodefesa (BERNARDE, 2014). As serpentes não peçonhentas também provocam acidentes, mas sem gravidade clínica, por não produzirem toxinas e nem aparatos para inoculá-las, com isso, são consideradas de menor importância, tanto médica, quanto para as pesquisas científicas (MELGAREJO, 2003; BERNARDE, 2011; BERNARDE; GOMES, 2012).

As serpentes nos oferecem serviços biológicos, econômicos e medicinais, possuem papel fundamental no controle biológico de diversos animais que afetam a vida da humanidade, como os ratos. Contudo a maioria desses animais são mortos pela população, por acreditar que todas as serpentes são animais potencialmente perigosos, sendo necessárias ações que diminuam esses efeitos negativos (MARTINS *et al.*, 2002; MELGAREJO, 2003).

Cerca de 3.709 espécies de serpentes estão distribuídas nas regiões tropicais e temperadas do planeta. Sua distribuição geográfica, apresentada na Figura 1, está diretamente relacionada à necessidade de obtenção de calor externo para sua termorregulação, por serem animais peilotérmicos, ou seja, adaptam sua temperatura corporal de acordo com a temperatura do ambiente (BORGES; ARAÚJO, 1998; MELGAREJO, 2009; ZANELLA *et al.*, 2009; WHO, 2014).

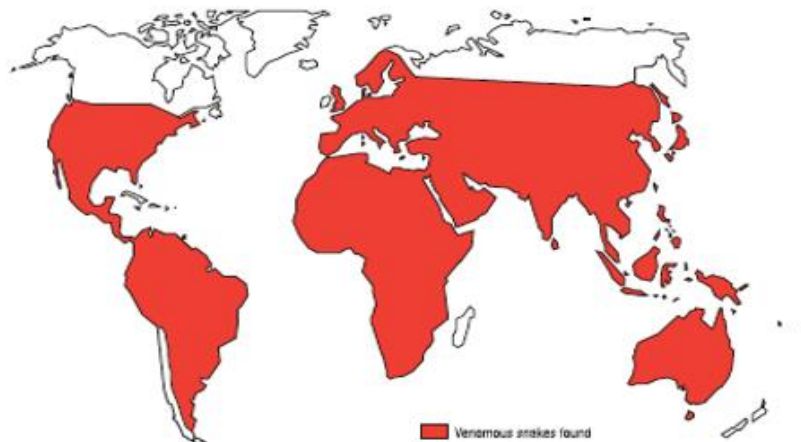


Figura 1: Área de distribuição mundial das serpentes. Fonte: WHO (2014)

O Brasil possui uma riquíssima diversidade faunística de serpentes pois as condições ambientais de país tropical são favoráveis para adaptação e sobrevivência desses animais. Podem ser encontradas no território brasileiro aproximadamente 412 espécies de serpentes, classificadas em dez famílias: Anomalepididae, Leptotyphlopidae, Typhlopidae, Aniliidae, Tropidophiidae, Boidae, Colubridae, Dipsadidae, Elapidae e Viperidae. As serpentes peçonhentas pertencem apenas a duas famílias, 27 espécies à

família Elapidae e 28 espécies à família Viperidae (MELGAREJO, 2003; BÉRNILS; COSTA, 2015; NOGUEIRA *et al.*, 2019).

Os acidentes com serpentes peçonhentas estão divididos em quatro tipos: acidentes botrópico, com serpentes dos gêneros *Bothrops* e *Bothrocophias* (incluindo recentemente *Rhinocerophis*, *Bothriopsis*, *Bothropoides*); acidentes crotálicos, com serpentes do gênero *Crotalus*; acidentes laquéticos, com serpentes do gênero *Lachesis*; acidente elapídico, com serpentes dos gêneros *Micrurus* e *Leptomicrurus*. Serpentes dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*, conhecidas popularmente como jararaca e cascavel, respectivamente, lideram na quantidade de acidentes registrados, esses gêneros pertencem à família Viperidae (MELGAREJO, 2003; MOREIRA; MORATO, 2014).

O acidente ofídico foi reconhecido pela Organização Mundial de Saúde como Doença Tropical Negligenciada devido ao elevado número de acidentes e sua gravidade (WHO, 2014). Cerca de 29.000 casos de envenenamentos por serpentes acontecem anualmente no Brasil, e uma média de 125 óbitos, e, na América do Sul, é o país com maior incidência de acidentes ofídicos (ALCÂNTARA *et al.*, 2018; SINAN, 2019). Os acidentes têm grande importância epidemiológica principalmente nas regiões Centro-Oeste e Norte do país, que lideram em número de casos (BRASIL, 2001; NADUR-ANDRADE *et al.*, 2012; BERNARDE, 2014). No período de 10 anos, 2007 a 2016, foram registrados cerca de 233.500 acidentes provocados por serpentes peçonhentas em todo país, 81.178 acidentes somente na região Norte (35%), prevalecendo os acidentes causados pelo gênero *Bothrops* (BOCHNER *et al.*, 2003; PINHO *et al.*, 2008; XIMENES *et al.*, 2018; SINAN, 2019).

As serpentes do gênero *Bothrops* abrangem aproximadamente 24 espécies, são caracterizadas pela ‘cabeça em formato de lança’, cauda lisa, e suas cores variam muito dependendo da espécie e da região onde vivem. Estão amplamente distribuídas no Brasil, algumas espécies representam maior importância por sua extensa distribuição geográfica, como, por exemplo, a *Bothrops atrox*, na Amazônia, e *Bothrops moojeni*, no Tocantins (OLIVEIRA, 2014; SILVA, 2017). A Tabela 1 mostra a distribuição das espécies do gênero *Bothrops* de maior relevância para a saúde pública. Os envenenamentos causados por serpentes desse gênero representam cerca de 90% dos acidentes ofídicos no Brasil (BRASIL, 1998; BOCHNER *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2013; NOGUEIRA *et al.*, 2016; SILVA, 2017; ALCÂNTARA *et al.*, 2018).

Tabela 1: Distribuição geográfica das serpentes do gênero *Bothrops*, no Brasil

NOME CIENTÍFICO	NOMES POPULARES	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA
<i>Bothrops alternatus</i>	Urutu urutu-cruzeira, cruzeira	RS, SC, PR, SP, MS e MG
<i>Bothrops atrox</i>	Surucucurana, jararaca-do-norte, comboia, jararaca-do-rabo-branco	AC, AM, RR, PA, AP, MA, RO, TO, CE e MT (áreas de floresta)
<i>Bothrops erythromelas</i>	Jararaca-da-seca	PI, CE, RN, PB, PE, AL, SE, BA e MG (áreas xerófitas/caatinga)
<i>Bothrops jararaca</i>	Jararaca jararaca-do-rabo-branco	BA, MG, ES, RJ, SP, PR, SC e RS
<i>Bothrops jararacuçu</i>	Jararacuçu	BA, ES, RJ, SP, PR, MG, MT e SC
<i>Bothrops leucurus</i>		BA
<i>Bothrops lutzi</i>	Jararaca	MG, BA, GO, TO, PI e CE
<i>Bothrops marmoratus</i>	Jararaca pintada	MT, MS, SP, TO, GO, RO e AM
<i>Bothrops moojeni</i>	Jararacão, jararaca, caiçaca	DF, GO, MG, SP, MT, MS, PI, PR e TO
<i>Bothrops neuwiedi</i>	Jararaca-pintada	Em todo o país, exceto Amazônia

Fonte: SILVA (2017) e BRASIL (1998)

O gênero *Bothrops* apresenta uma grande variabilidade na produção de suas toxinas, variação que ocorre em indivíduos da mesma espécie, distribuídos em diferentes regiões, devido à adaptação evolutiva. A composição dos venenos sofre influência dos fatores geográficos, do habitat, das variações sazonais, da dieta, do sexo e da idade, é utilizado para capturar e ajudar na digestão de presas. Com isso, torna-se relevante o reconhecimento das atividades dos venenos das espécies de cada região, principalmente as de maior importância para a saúde pública, para instituir os cuidados adequados (BRASIL, 2010; SOUSA *et al.*, 2018; AGUIAR *et al.*, 2019). Dessa forma, o estudo das espécimes de *Bothrops moojeni*, em cada região, é essencial para validação/produção do antiveneno (soro antiofídico) (MARTINS *et al.*, 2002; THEAKSTON *et al.*, 2003; BERNARDE, 2011; AGUIAR, 2016).

Os antivenenos foram incluídos em 2007 na lista de medicamentos essenciais, reconhecendo sua importância no atendimento às vítimas de acidentes por serpentes pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2014). A administração do antiveneno botrópico polivalente deve ser realizada o mais rápido possível para garantir a eficiência

do tratamento nos acidentes botrópicos (RAW *et al.*, 1991; BRASIL, 2001; FERNÁNDEZ *et al.*, 2010; SOUSA *et al.*, 2018).

1.2 O avanço agrícola no estado do Tocantins e o acidente botrópico

O estado do Tocantins está localizado na região Norte do país e ocupa uma área de 278.420,7 km², apresenta vegetação de Cerrado na maior parte de seu território (75,6%), sendo este o segundo maior bioma da América do Sul. O Cerrado corresponde a quase dois milhões de km² no Brasil e vem sendo destruído e fragmentado devido à expansão da atividade agrícola no país (PINHEIRO, 2008; SEPLAN, 2013).

O Tocantins está entre os nove estados que compõem a Amazônia Legal, seu clima é predominantemente tropical seco e semiúmido, com uma estação seca e outra chuvosa bem definida (CAVALCANTI *et al.*, 2012). A estação seca ocorre de maio a setembro, e o período chuvoso se inicia no mês de outubro e termina em abril. É abundante em luminosidade e ideal para atender às necessidades do ciclo produtivo de grãos (BRIDGEWATER *et al.*, 2004; MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2011).

Suas principais atividades econômicas são a agricultura e a pecuária, pois o estado possui fitofisionomia que favorece o processo de mecanização agrícola. Nos últimos dez anos, a produção de grãos do estado teve um crescimento superior a 180% na área plantada e 240% na produção (SEAGRO, 2018). Aproximadamente 52% da área original do Cerrado foi convertida para áreas de pastagem e agricultura. A destruição é preocupante e representa uma ameaça a esse ecossistema (IBGE, 2004; SEPLAN, 2013; SANTOS *et al.*, 2015; PENA, 2018). À medida que o Cerrado vem sendo devastado para abrir espaço à expansão das lavouras e da pecuária, várias espécies estão ficando em perigo crescente de extinção, inclusive as serpentes, que têm o Cerrado tocantinense como habitat natural. O desmatamento também ocasiona mudanças nos regimes de chuva, nas temperaturas e na umidade relativa do ar, que afetam a sobrevivência, possibilidades de alimentação, refúgio e reprodução das serpentes (BORGES; ARAÚJO, 1998; NOGUEIRA *et al.*, 2016; SILVA, 2017; IPAM, 2018).

No estado do Tocantins, registra-se uma quantidade significativa de acidentes ofídicos a cada ano (Figura 2), com uma média de aproximadamente 700 acidentes por ano, no período de 2007 a 2019 (SINAN, 2019).

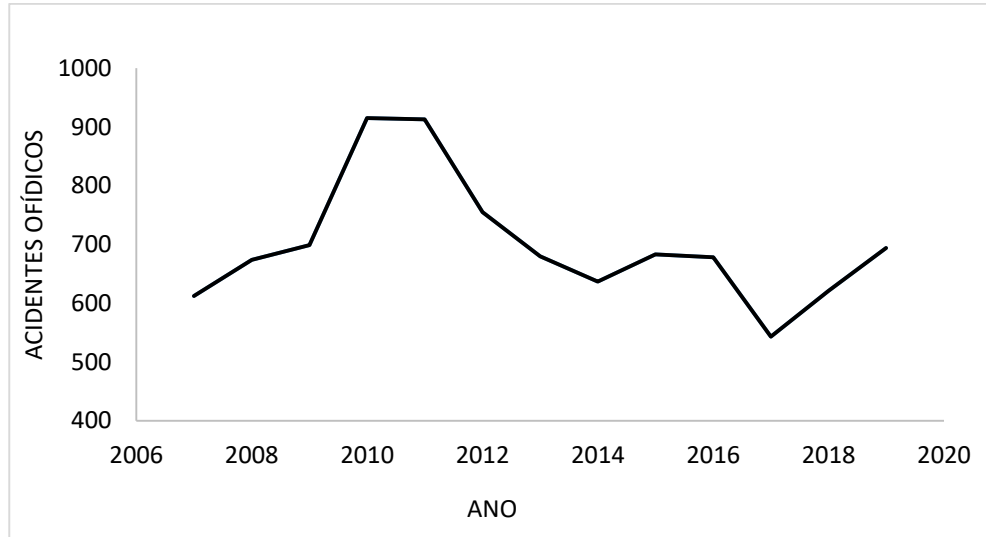


Figura 2: Frequência anual dos acidentes ofídicos no Tocantins no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN, (2019)

Foram notificados 9.104 acidentes ofídicos (2007-2019), com predomínio dos acidentes botrópicos (87%), seguidos de 11% pelo gênero *Crotalus*. Os gêneros de *Lachesis* e *Micrurus* representaram valor inferior a 3% das ocorrências registradas no estado (SINAN, 2019) (Figura 3). Os acidentes com serpentes do gênero *Bothrops* são destaques devido ao elevado número de registros no estado.

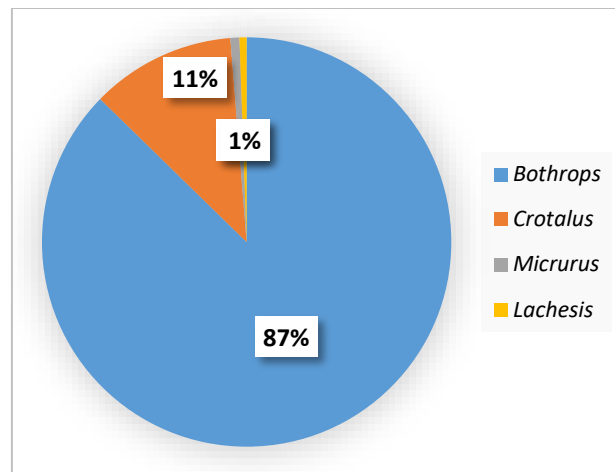


Figura 3: Acidentes com serpentes peçonhentas no Estado do Tocantins, segundo o gênero, no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN, (2019)

A quantidade das notificações para o acidente ofídico pode ser justificado pelo desmatamento e também pelo desenvolvimento das áreas de plantio, contudo pouco se conhece a respeito das relações entre a biologia das serpentes do Cerrado tocantinense e a ocorrência desses acidentes. Essas variáveis podem estar relacionadas aos acidentes ofídicos e a suas complicações (LIMA *et al.*, 2009; SILVA, 2017; ALCÂNTARA *et al.*, 2018). De acordo com dados do Sistema Nacional de Informações Tóxicas Farmacológicas, os acidentes, de um modo geral, ocorrem principalmente em zonas rurais (SINITOX, 2010). Alguns fatores socioambientais, como tempo chuvoso e quente, vegetação, habitação rural e processo de urbanização de áreas periféricas das cidades, podem estar diretamente relacionados aos índices de acidentes ofídicos, mais frequentes nos meses de novembro a abril, e fazem trabalhadores rurais do sexo masculino, na faixa etária de 15 a 49 anos, suas principais vítimas (BOCHNER *et al.*, 2003; PINHO *et al.*, 2004; LEOBAS *et al.*, 2016; PARISE, 2016).

Silva (2017) reuniu vários trabalhos sobre a fauna de serpentes para o estado do Tocantins e relatou três espécies de *Bothrops*: *Bothrops lutzi*, *Bothrops marmoratus* e *Bothrops moojeni*. A espécie *Bothrops moojeni*, também conhecida como caiçaca, é a mais frequente, e foi registrada em 38 municípios do estado, portanto, com ampla distribuição no território tocantinense (Figura 4), sendo a principal espécie causadora de acidente botrópico no estado (SILVA, 2017).



Figura 4: Imagem e mapa de distribuição da espécie *Bothrops moojeni*, no Tocantins.

Fonte: SILVA, (2017)

As serpentes do gênero *Bothrops*, que compõem as diversas espécies de jararaca, são caracterizadas por possuírem fosseta loreal e cauda lisa, sem chocalho. Pertencentes à família dos Viperídeos, têm uma única ninhada por ano, no início da estação chuvosa, e costumam nascer de 12 a 14 filhotes, após quatro meses de gestação. Possuem uma grande capacidade de adaptação, podem atingir aproximadamente 1,7 metros de comprimento quando adultas. Sua alimentação é composta principalmente de pequenos mamíferos, anfíbios, lagartos, serpentes e aves. São todas solenóglifas (Figura 5), ou seja, apresentam presas grandes, agudas e ocas, localizadas na porção anterior da maxila e que se projetam para fora da boca no momento do ataque (RIBEIRO, 1990; CARDOSO *et al.*, 2009; NOGUEIRA *et al.*, 2003; MOREIRA; MORATO, 2014).

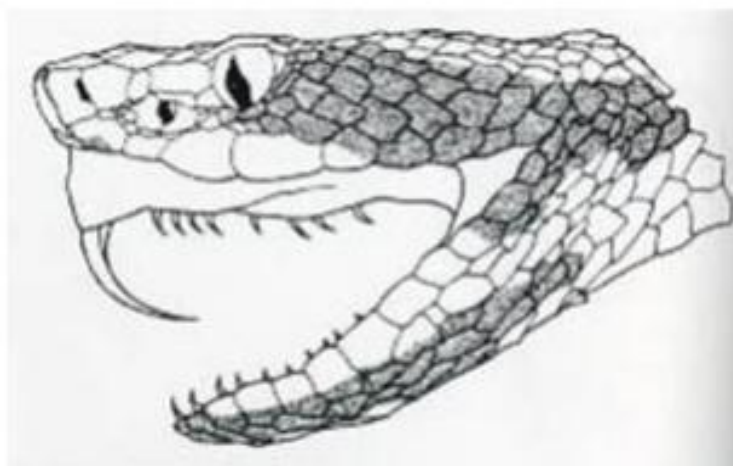


Figura 5: Dentição solenóglifa das serpentes do gênero *Bothrops*. Fonte: FUNED, (2014)

A espécie *Bothrops moojeni* (Figura 4) foi descrita pela primeira vez por Hoge, (1966), em Brasília, Distrito Federal. Recebeu esse nome em homenagem ao pesquisador mineiro João Moojen. Prefere ambientes úmidos como matas, áreas cultivadas e locais onde haja facilidade para proliferação de roedores, demonstra grande versatilidade em se adaptar a áreas urbanizadas. É encontrada principalmente em zonas rurais e periferias das grandes cidades, está amplamente distribuída no território brasileiro, desde o Paraná até o Maranhão. Apresenta comportamento agressivo e chega a atacar sem causar ruídos. Por ser a espécie que mais causa acidentes ofídicos no

Cerrado, apresentando grande importância médica nessas regiões (SANTOS *et al.*, 2014; SILVA, 2017).

1.3 Atividade biológica do veneno botrópico

O veneno das serpentes do gênero *Bothrops* é produzido por glândulas exócrinas especializadas, a principal função está relacionada à captura de alimento. Contém diferentes toxinas de natureza proteica. Cerca de 90% do peso seco dos venenos é constituído por uma mistura complexa de proteínas e peptídeos, como também por carboidratos, lipídios, metais, nucleotídeos e aminoácidos livres, entre outros. Algumas das proteínas são enzimas, como serinoproteinases e metaloproteinases, que contribuem para a digestão da presa e são as principais frações tóxicas do veneno botrópico (BERNARDES *et al.*, 2008; GUTIÉRREZ *et al.*, 2011; SERRANO, 2013; AMORIM *et al.*, 2018; AGUIAR *et al.*, 2019).

O veneno botrópico possui alta complexidade e variação quanto às proteínas, provoca efeitos lesivos, sistêmicos e locais após a picada, pela ação enzimática e proteolítica (necrose tecidual) (RODRIGUES *et al.*, 1998). Efeitos locais frequentemente incluem dor, hemorragia, edema e mionecrose no local da picada, que, dependendo da intensidade, pode levar à síndrome compartimental e à necrose de tecidos profundos. Sua real magnitude varia de acordo com a composição do veneno, fatores de risco para complicações locais, como picada em extremidades e uso de torniquete, e a qualidade da assistência prestada ao paciente (SERRANO *et al.*, 1993; SALVADOR *et al.*, 2018; SOUSA *et al.*, 2018).

Os efeitos sistêmicos no envenenamento por *Bothrops* são resultados da coagulopatia de consumo, que resultam em distúrbios da coagulação (MOURA-DASILVA, 1991; SANO-MARTINS *et al.*, 2009; SHARMA, 2019). Os efeitos sistêmicos levam à incoagulabilidade sanguínea e hemorragias, como equimoses, gengivorragia, hematúria e outras menos comuns, porém com gravidade potencial, como sangramento digestório, pulmonar ou intracraniana. Também decorrentes da ação sinérgica das diferentes toxinas que compõem o veneno, distúrbios hemodinâmicos e alterações renais contribuem para a letalidade nos envenenamentos botrópicos. Outras manifestações clínicas que também levam às complicações sistêmicas nos acidentes botrópicos são

choque circulatório e insuficiência renal aguda (PINHO *et al.*, 2008; SANO-MARTINS *et al.*, 2009).

Os distúrbios hemostáticos e os sinais locais observados no envenenamento botrópico são utilizados para classificar a gravidade do paciente acidentado em leve, moderado e grave (Tabela 2). A classificação baseia-se no tamanho do edema local, no tempo de coagulação, que se apresenta normal ou alterado, e na presença/ausência e grau de hemorragia apresentada (BRASIL, 2010).

Tabela 2: Gravidade do acidente Botrópico e seus principais sinais clínicos

Gravidade	Sinais clínicos
LEVE	Quadro local discreto, sangramento em pele ou mucosas; pode haver apenas distúrbio na coagulação.
MODERADA	Edema e equimose evidentes, sangramento sem comprometimento do estado geral; pode haver distúrbio na coagulação (Figura 6).
GRAVE	Alterações locais intensas, hemorragia grave, hipotensão, anúria.

Fonte: BRASIL, (2010)

Segundo o Ministério da Saúde (2010), o tempo decorrido entre o acidente e a terapia com antiveneno é o fator prognóstico mais importante e, em geral, correlaciona-se com a gravidade. Dessa forma, o tempo é o fator determinante, pois, quanto menor esse tempo para o atendimento médico iniciar, menores são as chances de ocorrerem complicações em decorrência do acidente ofídico. Porém é um dos problemas do acidente ofídico nos países em desenvolvimento, a dificuldade da população mais carente em acessar as unidades de saúde (FERNÁNDEZ *et al.*, 2010).

A utilização do antiveneno é a terapia mais eficaz no controle das manifestações sistêmicas, sua ação baseia-se na formação de um complexo entre antígeno com anticorpos específicos. O antiveneno botrópico é uma formulação pentavalente, produzido a partir da imunização de cavalos, com a mistura dos seguintes antígenos: *Bothrops jararaca* (50%), *Bothrops jararacussu* (12,5%), *Bothrops alternatus* (12,5%), *Bothrops moojeni* (12,5%) e *Bothrops neuwiedi* (12,5%). São produzidos no Brasil por instituições públicas: Instituto Butantan, Fundação Ezequiel Dias, Instituto Vital Brasil e

Centro de Produção e Pesquisa em imunobiológicos, que suprem a demanda nacional de antivenenos, dispensados de forma gratuita para a população (RAW *et al.*, 1991).

Os pacientes com manifestações clínicas de envenenamento necessitam de antiveneno de acordo com a espécie da serpente e da intensidade do envenenamento, definido pelo quadro instalado. Na maioria dos acidentes, os tratamentos são instituídos por meio do reconhecimento das lesões e da sintomatologia apresentada pelo paciente (GOMES *et al.*, 2009; FERNÁNDEZ *et al.*, 2010; BRASIL, 2011).

Para compreender a evolução do paciente vítima de acidente botrópico em cada região, são necessários estudos para avaliar a toxicidade experimental do veneno. O desenvolvimento de terapias mais eficazes depende desse tipo de avaliação e ainda a caracterização dos fatores favoráveis ao encontro das serpentes pode colaborar com a prevenção e, conseqüentemente, com o mapeamento desses acidentes (MORAES *et al.*, 2012; LEOBAS *et al.*, 2016). Entretanto são poucos os estudos que descrevem o perfil epidemiológico dos acidentes, como também não há dados na literatura que tracem o perfil do veneno de *Bothrops moojeni* para o Cerrado tocantinense, o que justifica a necessidade de pesquisas nessa área.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o perfil epidemiológico do paciente acidentado por serpentes do gênero *Bothrops*, os fatores ambientais facilitadores dos acidentes, a toxicidade experimental do veneno de *Bothrops moojeni* e a terapia com antiveneno, para o estado do Tocantins.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar o perfil epidemiológico dos pacientes acidentados por serpentes do gênero *Bothrops*, no período de 2007 a 2019, para o estado do Tocantins.
- Comparar o índice mensal dos acidentes botrópicos com a precipitação pluviométrica, temperatura do ar, umidade relativa do ar e avanço agropecuário no estado do Tocantins, para o período de 2007 a 2019.
- Avaliar o grau de toxicidade experimental do veneno de *Bothrops moojeni*, do estado do Tocantins.
- Aferir a capacidade do antiveneno botrópico em neutralizar os efeitos locais e sistêmicos, causados no envenenamento pela *Bothrops moojeni*, do estado do Tocantins.

3 METODOLOGIA

3.1 Perfil epidemiológico do acidente botrópico no Tocantins

Essa etapa representou um estudo epidemiológico, retrospectivo de abordagem quantitativa. Foram avaliados os dados referentes aos acidentes botrópicos, no período de 2007 a 2019, por meio do TabWin, *software* utilizado para tabulação dos dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), pesquisados em abril de 2020. Foram analisadas as variáveis epidemiológicas referentes ao indivíduo acidentado (sexo e faixa etária), ao atendimento hospitalar (gravidade e evolução do caso), ao local de ocorrência (município) e ao mês do acontecimento. Os dados foram tabulados em planilhas elaboradas no programa Excel® do Windows versão 10.

3.2 Relação da precipitação pluviométrica, temperatura do ar, umidade relativa do ar e avanço agropecuário com o acidente botrópico

Foi analisada a relação do acidente botrópico com algumas das variáveis climáticas e agropecuárias, para os três municípios com maior registro de acidentes: Araguaína, Palmas e Porto Nacional. Nesta avaliação, as unidades de análise foram os municípios e a variável desfecho o número de acidente botrópico.

A incidência do acidente botrópico foi organizada mensalmente (para avaliar período sazonal: seca ou cheia) e anualmente. A correlação foi realizada com as médias acumuladas mensais ou anuais da temperatura do ar, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica. Os dados das condições climáticas foram obtidos do Banco de Dados Meteorológicos do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), para o período de 2007 a 2019. Cabe destacar que, cada município possui uma Unidade de Coleta de Dados Climáticos, portanto, essa análise foi realizada com os dados específicos de cada município.

Para avaliar e fundamentar a análise do avanço agropecuário no Tocantins, as médias acumuladas anuais foram calculadas a partir dos dados disponibilizados pelo Sistema IBGE de Recuperação Automática (SIDRA), provenientes do Censo Agropecuário realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), para

os anos de 2007 e 2018. Foram analisadas as variáveis de área plantada, produto da lavoura de grãos de feijão, milho e soja, total de rebanho bovino e Produto Interno Bruto (PIB) agropecuário dos municípios.

A associação do acidente botrópico com as variáveis climáticas e agropecuárias foi realizada pelo teste de Pearson, *software* GraphPad Prisma (versão 5.03). Os resultados foram interpretados de acordo com Dancey e Reidy (2006), que apontam para uma classificação: $r = 0,10$ até $0,30$ (fraco); $r = 0,40$ até $0,6$ (moderado); $r = 0,70$ até 1 (forte). Quanto mais perto de 1 (independente do sinal) maior é o grau de dependência estatística linear entre as variáveis. No outro oposto, quanto mais próximo de zero, menor é a força dessa relação.

3.3 Toxicidade experimental do veneno de *Bothrops moojeni* e neutralização

Para avaliar a atividade biológica do veneno de *Bothrops moojeni* foram utilizados alguns protocolos que possibilitaram sua caracterização biológica (*in vitro* e *in vivo*), seguido de protocolos de neutralização com antiveneno botrópico comercial.

3.3.1 Venenos

Para esse estudo, foram utilizados os venenos de seis serpentes, coletadas nas áreas rurais dos municípios de Araguaína (duas fêmeas), Palmas (um macho e duas fêmeas) e Santa Rosa (uma fêmea), no estado do Tocantins, nos anos de 2016 e 2017, com autorização científica nº 52416-1, liberada pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), de acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, e o material biológico cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do conhecimento Tradicional Associado (SisGen nº A2C170C). As serpentes foram capturadas e encaminhadas para o Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan, onde ficaram mantidas em cativeiro.

Os venenos foram extraídos antes dos animais receberem a primeira alimentação em cativeiro, liofilizados e estocados em freezer a -20°C , para sua utilização.

3.3.2 Antiveneno botrópico

O antiveneno botrópico, utilizado para avaliar a neutralização das atividades do veneno de *Bothrops moojeni*, foi fornecido pelo Instituto Butantan/SP (pentavalente, lote 1305077), produzido por hiperimunização de cavalos, com um *pool* de cinco venenos de espécies de *Bothrops*: *Bothrops alternatus* (12,5%), *Bothrops jararaca* (50%), *Bothrops jararacussu* (12,5%), *Bothrops moojeni* (12,5%) e *Bothrops neuwiedi* (12,5%).

3.3.4 Atividades biológicas do veneno e neutralização com antiveneno

O veneno foi testado quanto às suas ações em experimentos *in vivo*, nas atividades: 1- desfibrinogenante, 2- hemorrágica, 3- edematogênica, 4- miotóxica; e *in vitro* nos ensaios de coagulação e atividade fibrinolítica.

Os experimentos envolvendo animais foram realizados em camundongos e ratos provenientes do Biotério Central do Instituto Butantan, com autorização do Comitê de Ética Animal, nº 6120021018 (ID 001467), e seguiram normas e requisitos éticos da pesquisa envolvendo animais de laboratório.

a. Atividade coagulante: A dose mínima coagulante (DMC) foi realizada com *pool* de plasma de ratos e fibrinogênio bovino (2 g/L - Calbichen, Lote: D00131768, Fab: Darmstadt, Germany). O tempo de coagulação foi obtido adicionando-se alíquotas de 200 µl da solução de plasma/fibrinogênio, que permaneceram sob aquecimento em coagulômetro semiautomático (Start 4, Diagnostica Stago, França), a 37°C durante dois minutos. Em seguida, foram adicionados 100 µl de solução com diferentes concentrações do veneno (12,50; 6,25; 3,12; 1,56; 0,78 µg), diluídos Soro Fisiológico (S.F.) a 0,90g%, estéril. Os ensaios foram realizados em triplicata, os resultados foram analisados no *software* InStat 3.01, para obter a DMC por meio de regressão. A DMC foi definida como a menor concentração de veneno capaz de coagular uma solução de fibrinogênio (DMC-F) e/ou plasma (DMC-P), em 60 segundos, a 37°C (THEAKSTON; REID, 1983).

Para avaliar a neutralização desta atividade coagulante, foram preparadas diferentes diluições de antiveneno botrópico, de forma a se obter as seguintes razões de

μL de antiveneno/mg de veneno: 1000; 500; 250; 125; 62,50; 31,25; e 15,62 $\mu\text{L}/\text{mg}$, completando o volume final para 1 mL, com S.F. 0,90g% estéril. As diferentes diluições do antiveneno foram incubadas com uma concentração constante de veneno (390 μg plasma de rato e 151 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para o fibrinogênio), equivalente a 3x DMC, a 37°C por 30 minutos. Depois da incubação o tempo de coagulação foi registrado no coagulômetro em triplicatas para cada concentração de antiveneno. Foi preparado um controle contendo a mesma quantidade de veneno, porém sem antiveneno botrópico, (controle positivo), bem como outro contendo antiveneno botrópico, mas sem o veneno (controle negativo), onde a quantidade de antiveneno e veneno foi substituída por S.F. 0,90g% estéril. O resultado foi expresso como Dose Efetiva (DE), que é definida como a razão de μL de antiveneno/mg de veneno, em que o tempo de coagulação corresponde a 3x o tempo de coagulação do plasma incubado apenas com o veneno.

b. Atividade desfibrinogenante: Nessa atividade, foi empregado o método de Theakston e Reid (1983), modificado por Gené *et al.* (1989). Cinco grupos com quatro camundongos, foram injetados por via intravenosa (i.v), na veia caudal, com diferentes concentrações de veneno (0,5; 0,7; 1,0; 1,5 e 2 μg), dissolvidas em 200 μL de S.F. 0,90g% estéril. Depois de 1h do envenenamento, os camundongos foram sangrados pelo plexo orbital, utilizando pipeta Pasteur. O sangue foi colocado em tubos de vidro e deixado em repouso à temperatura ambiente. A formação do coágulo foi verificada após 1 minuto, 20 minutos, 30 minutos e 120 minutos, pela inclinação dos tubos. A desfibrinogenação foi evidenciada pela falta de coagulação. A Dose Mínima Desfibrinogenante (DMD) foi correspondente à dose mínima de veneno que induziu a incoagulabilidade sanguínea (desfibrinogenação) em 120 minutos após a coleta do sangue dos camundongos envenenados.

A neutralização da atividade desfibrinogenante foi determinada utilizando-se uma concentração constante de veneno equivalente a 2x DMD (GENÉ *et al.*, 1989), incubada com diversas diluições de antiveneno botrópico em um volume final de 1 mL, de forma a se obter as razões μL de antiveneno/mg de veneno (1000; 500; 250; 125; 62,50; 31,25; e 15,62 $\mu\text{L}/\text{mg}$), completando-se os volumes correspondentes com S.F. 0,90g% estéril. Foi preparado um controle contendo a mesma quantidade de veneno, porém sem antiveneno botrópico (controle positivo), bem como outro contendo antiveneno botrópico,

sem o veneno (controle negativo). Após a incubação por 30 minutos, em banho-maria, a 37°C, 200 µL da mistura foram injetados por via intravenosa em seis grupos de camundongos (n=4) e o sangue foi coletado após 1h da injeção. A formação do coágulo foi verificada após 1 minuto, 20 minutos, 30 minutos e 120 minutos, pela inclinação dos tubos, para verificar a incoagulabilidade sanguínea. A capacidade de neutralização foi expressa como Dose Efetiva, que é definida como a menor razão µL de antiveneno/mg de veneno que previne incoagulabilidade sanguínea em todos os animais envenenados.

c. Atividade hemorrágica: A Dose Mínima Hemorrágica (DMH) é definida como a menor quantidade de veneno capaz de induzir um halo de hemorragia de 10 mm de diâmetro. Para essa atividade, doses crescentes do veneno de *Bothrops moojeni* (0,2; 0,4; 0,8; 16 mg/Kg/100 µL S.F. 0,90g%) foram administradas intradermicamente (i.d) na região abdominal de camundongos, distribuídos em quatro grupos com quatro animais(n=4). Após duas horas da administração do veneno, os animais foram eutanasiados em câmara de CO₂ e a pele do abdômen retirada para a avaliação da área hemorrágica. A atividade hemorrágica foi medida considerando a média e o desvio padrão dos diâmetros da área hemorrágica (mm²), em três experimentos independentes.

Para avaliar o potencial do antiveneno botrópico na neutralização da atividade hemorrágica, foram utilizados 5x DMH (380 µg) do veneno de *Bothrops moojeni*, incubados por 30 minutos com diferentes concentrações de antiveneno botrópico, de forma a se obter as seguintes razões µL de antiveneno/mg de veneno: 1000; 500; 250; 125; 62,50; 31,25; e 15,62 µL/mg. Essa mistura foi injetada, por via intradérmica nos camundongos, distribuídos em quatro grupos com 4 animais cada. Após duas horas, os animais foram eutanasiados em câmara de CO₂, e a pele do abdômen foi retirada para mensuração dos halos hemorrágicos, e os resultados foram submetidos à análise estatística. Para o grupo controle, foi preparada uma solução contendo a mesma quantidade de veneno, porém sem antiveneno botrópico (controle positivo), bem como, outro contendo antiveneno botrópico, mas sem o veneno (controle negativo).

d. Atividade edematogênica: O experimento foi dividido em duas etapas: a primeira consistiu em avaliar o perfil edematogênico utilizando 1 µg (em 40 µL de S.F. 0,90g% estéril), para definir o pico edematogênico e determinar a Dose Mínima Edematogênica

(DME) do veneno de *Bothrops moojeni*. A segunda etapa foi para avaliar o potencial do antiveneno botrópico em neutralizar o edema.

Primeiramente, avaliou-se o perfil edematogênico do veneno de *Bothrops moojeni*, injetando-se 1 µg (em 40 µL de S.F. 0,90g% estéril) por via intraplantar (i.pl.) na pata direita de camundongos (n=5) e o mesmo volume de S.F. 0,90g% estéril sem veneno na pata contralateral (controle negativo). O edema foi mensurado utilizando um pletismômetro em diferentes períodos de tempo (0,5; 1; 3; 6; e 24 horas) a fim de definir o pico da atividade edematogênica. Depois de definido o pico da atividade edematogênica (1 hora), o veneno foi diluído em diferentes concentrações (0,12; 0,25; 0,5; e 1,0 µg), contidas em 40 µL de S.F. 0,90g% estéril, e injetado no coxim plantar, por via intradérmica, de camundongos machos, com peso entre 18-20 gramas, sendo um grupo de quatro animais para cada dose. A pata contralateral recebeu o mesmo volume de S.F. 0,90g% estéril. Os volumes das patas foram medidos 0h (antes da administração do veneno), e após 1 hora (pico do edema determinado anteriormente). O edema foi expresso em % de aumento do volume da pata injetada com veneno (V_e) em relação ao volume da pata controle injetada com S.F. 0,90g% estéril (V_s), como demonstrado abaixo:

$$\% \text{ de aumento do volume podal} = \frac{V_e - V_s}{V_s} \times 100$$

A dose mínima edematogênica foi calculada no pico da atividade edematogênica e definida como a dose de veneno que induziu aumento de 30% no volume da pata. Para o cálculo da DME foi realizada curva de quantidade de veneno (µg) X edema (%), utilizando o *software* Instat versão 3.01, a partir da qual se obteve o valor da DME através de regressão.

Para os ensaios de neutralização do edema, diversas diluições de antiveneno botrópico foram preparadas, completando o volume final para 1 mL com S.F. 0,90g% estéril, de forma a se obter as seguintes razões µL de antiveneno/mg de veneno: 1000; 500; 250 µL/mg. As doses de cada diluição do antiveneno foram incubadas em concentração constante de veneno equivalente a 6x DME (1,8 µg), a 37°C por 30 minutos. Também foi preparada uma solução controle com uma concentração do veneno equivalente a 6x DME sem o antiveneno (controle positivo). As soluções foram injetadas no coxim plantar de camundongos, distribuídos em cinco grupos, para observar o

desenvolvimento do edema. A quantidade de antiveneno botrópico que inibiu 30% do edema foi definida como a quantidade de antiveneno eficiente para neutralização do edema.

e. Atividade Fibrinolítica: Foi testada em placa de fibrina-agarose conforme metodologia descrita por Jespersen e Astrup (1983). Para isso, foram preparados 10 mL de solução de fibrinogênio humano livre de plasminogênio (2 g/L, *Calbiochem*, Alemanha) em tampão Tris-HCl 0,05 M, pH=7,3, contendo NaCl 0,2 M e CaCl₂ 0,05 M. Após isso, 40 µL de trombina bovina (*Sigma*, Estados Unidos) na concentração final de 2 U/mL e 10 mL de uma solução pré-aquecida de agarose *low melting* 2% (*Amresco*, Estados Unidos), diluída também em tampão Tris-HCl 0,05 M, pH=7,3, foram adicionados à solução de fibrinogênio. A mistura foi imediatamente homogeneizada e depositada em uma placa de petri 9,0 x 15 cm lisa, contendo 500 µL de CaCl₂ a 1 M, mantida a temperatura ambiente (T.A) em uma superfície plana por aproximadamente 1 hora até a solidificação. Foram feitos poços na placa da fibrina-agarose para aplicação de diferentes concentrações de veneno (1, 5 e 10 µg em 20 µL de S.F. 0,90g%). A placa foi incubada a 37°C em câmara úmida durante 18 horas, e o halo de lise foi mensurado em cm². Os testes foram realizados em triplicatas. Como controle negativo, foi utilizado S.F. 0,90g% estéril.

f. Atividade miotóxica: Um grupo de camundongos machos, com peso entre 18-20 gramas (n=5), foi injetado com veneno de *Bothrops moojeni*, intramuscular (i.m.), no músculo gastrocnêmico direito, com uma concentração do veneno de 50 µg, diluídos em 0.5 mL/animal com S.F. 0,90g% estéril. O grupo controle (n=5) foi injetado com S.F. 0,90g% estéril nas mesmas condições (controle negativo). Após três horas de envenenamento, os animais foram sacrificados e o sangue coletado por punção cardíaca para a dosagem da Creatino Fosfoquinase (CK) (GUTIÉRREZ *et al.*, 2006; NAKADA *et al.*, 1984). Para as dosagens plasmáticas de CK, o sangue foi coletado com EDTA 10%, o plasma foi separado por centrifugação a uma temperatura de 20°C, a 3000 r.p.m., por 15 minutos. Os níveis individuais de CK foram quantificados utilizando o KIT de dosagem sérica de CK (CK-NAC – Labtest Diagnóstica®), usando 0,02 mL de amostra e 1 mL de reagente. O valor de CK foi expresso em Unidades/L, em que cada unidade é definida

como a quantidade de enzimas que catalisam a hidrólise de 1 μmol de NADH por minuto a 25°C.

Os resultados das atividades experimentais *in vivo* e *in vitro* foram analisados pelos *softwares* Instat versão 3.01 e Graph Pad Prisma versão 5.03 e expressos por meio da Média \pm Erro Padrão, organizados e distribuídos na forma de gráficos e tabelas.

4 RESULTADOS

4.1 Perfil epidemiológico do acidentado por *Bothrops* no Tocantins

No período de 2007 a 2019, o acidente botrópico no Tocantins foi responsável por 7.906 acidentes, com 33 óbitos. A maior incidência dos acidentes foi em vítimas do sexo masculino, com 6.125 acidentes (76,7%), e distribuição heterogênea em relação à faixa etária dos acidentados. A população economicamente ativa (20 a 59 anos) foi a mais acometida (62% dos acidentes). As crianças e adolescentes tiveram representatividade de 27,3%, e os idosos representaram um percentual de 10,7% (Figura 6).

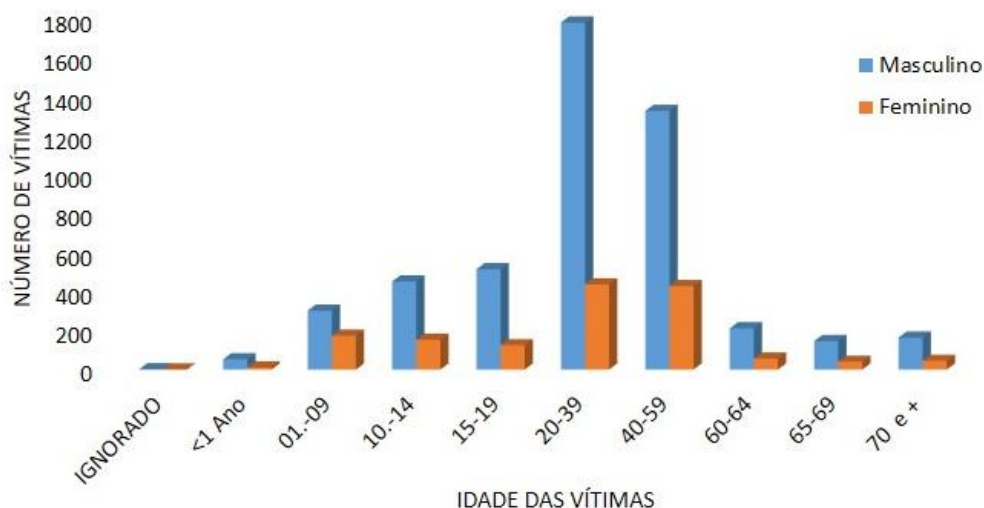


Figura 6: Número de acidentes causados pelo gênero *Bothrops*, segundo faixa etária e sexo, para o estado do Tocantins, no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN, (2019).

A Figura 7 apresenta a gravidade dos acidentes registrados no período de 2007 a 2019. Dos acidentes, 42,2% foram classificados como grau leve, 41,2% como moderado, 5% como grave, e 3,7% foram considerados ignorado/branco. Os acidentes que evoluíram para óbito representaram 0,4% do total dos acidentes, sendo que a maior incidência de óbitos foi naqueles considerados graves (17 óbitos). Contudo, é importante destacar que também houveram óbitos nos acidentes classificados como moderado (10 óbitos), leve (2 óbitos) e naqueles ignorados (4 óbitos). Os demais evoluíram para cura.

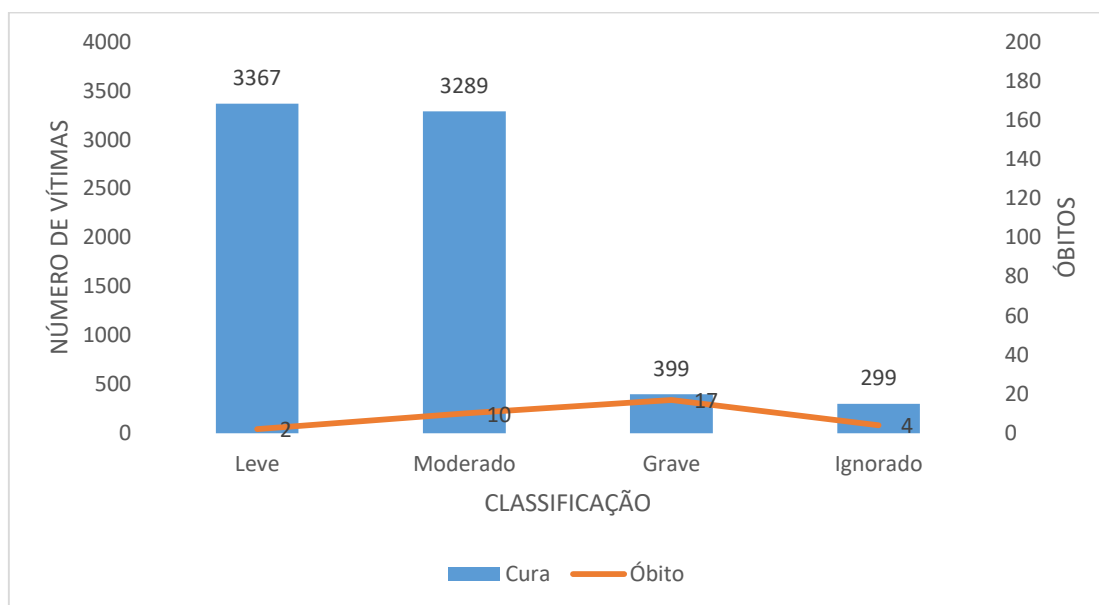


Figura 7: Gravidade e letalidade dos acidentes causados pelo gênero *Bothrops*, no estado do Tocantins, no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN, (2019).

A Tabela 3 apresenta o número de acidentes ofídicos por serpentes do gênero *Bothrops*, atendidos nos 103 municípios do Tocantins, no período de 2007 a 2019. O município de Araguaína apresentou o maior número de acidentes, com total de 513 acidentes (6,5%), seguido pela capital Palmas, com total de 329 acidentes (4,2%), e pelo município de Porto Nacional, com 272 acidentes (3,4%).

Tabela 3: Número de acidentes causados pelo gênero *Bothrops*, atendidos nos municípios do estado do Tocantins, no período de 2007 a 2019.

MUNICÍPIO	Nº.	MUNICÍPIO	Nº.	MUNICÍPIO	Nº.	MUNICÍPIO	Nº.
Abreulândia	37	Chapada da Natividade	32	Luzinópolis	24	Presidente Kennedy	20
Aguiarnópolis	2	Colinas do Tocantins	101	Marianópolis	62	Pugmil	14
Aliança do T.	47	Colmeia	46	Mateiros	22	Recursolândia	135
Almas	61	Combinado	8	Maurilândia do Tocantins	13	Riachinho	30

Alvorada	10	Conceição do T.	15	Miracema	164	Rio da Conceição	18
Ananás	54	Couto Magalhães	54	Miranorte	116	Rio dos Bois	19
Angico	24	Cristalândia	42	Monte do Carmo	74	Rio Sono	62
Aparecida do Rio Negro	65	Crixás	22	Monte Santo	23	Sampaio	3
Araguacema	110	Darcinópolis	48	Muricilândia	48	Sandolândia	20
Araguaçu	25	Dianópolis	63	Natividade	50	Santa Fé do Araguaia	111
Araguaína	513	Divinópolis do Tocantins	95	Nazaré	41	Santa Maria do Tocantins	67
Araguanã	34	Dois Irmãos do Tocantins	151	Nova Olinda	113	Santa Rita	30
Araguatins	191	Dueré	73	Nova Rosalândia	28	Santa Rosa	52
Arapoema	38	Esperantina	16	Novo Acordo	38	Santa Tereza	19
Arraias	75	Fátima	29	Novo Alegre	1	Santa Terezinha	7
Augustinópolis	13	Figueirópolis	15	Novo Jardim	8	São Bento do Tocantins	54
Aurora do Tocantins	14	Filadélfia	33	Oliveira de Fátima	19	São Félix do Tocantins	18
Axixá	27	Formoso do Araguaia	111	Palmas	329	São Miguel	34
Babaçulândia	111	Fortaleza do Tabocão	19	Palmeirante	77	São Salvador do Tocantins	19
Bandeirantes	37	Goianorte	78	Palmeiras	8	São Sebastião do Tocantins	8
Barra do Ouro	60	Goiatins	249	Palmeirópolis	38	São Valério	53
Barrolândia	39	Guaraí	96	Paraíso	148	Silvanópolis	41
Bernardo Sayão	30	Gurupi	89	Paraná	28	Sítio Novo	27
Bom Jesus	47	Ipueiras	27	Pau D'Arco	21	Sucupira	15
Brasilândia	21	Itacajá	132	Pedro Afonso	78	Taguatinga	34
Brejinho de Nazaré	43	Itaguatins	37	Peixe	90	Taipas	2
Buriti	7	Itapiratins	47	Pequizeiro	64	Talismã	6
Cachoeirinha	11	Itaporã	15	Pindorama	30	Tocantínia	189
Campos Lindos	134	Jaú do Tocantins	25	Piraquê	39	Tocantinópolis	143
Caseara	10	Juarina	41	Pium	64	Turirama	18
Carmolândia	17	Lagoa da Confusão	68	Ponte Alta do Bom Jesus	19	Tupiratins	14
Carrasco Bonito	3	Lagoa do Tocantins	41	Ponte Alta do Tocantins	88	Wanderlândia	118
Caseara	73	Lajeado	34	Porto Alegre do Tocantins	17	Xambioá	48
Centenário	70	Lavandeira	2	P. Nacional	272	Ignorado	3

*Os dados estão sujeitos a revisão na plataforma; Nº. = número de acidentes

Fonte: SINAN, (2019).

Os municípios do estado do Tocantins que tiveram os maiores números de registros de acidentes botrópicos estão apresentados na Figura 8.

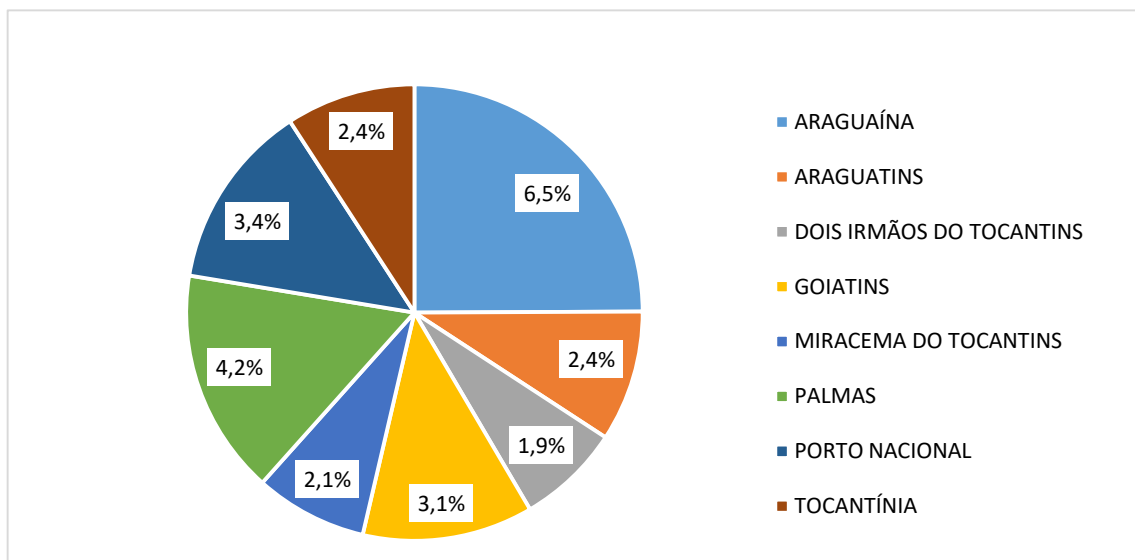


Figura 8: Distribuição dos municípios com maior número de acidentes botrópicos, no período de 2007 a 2019, do estado do Tocantins. Fonte: SINAN, (2019).

A distribuição dos acidentes botrópicos, por mês de ocorrência, nas cidades com os maiores registros, Araguaína, Palmas e Porto Nacional, está apresentada na Tabela 4. Observa-se uma quantidade crescente no registro dos acidentes para os meses de fevereiro, março e abril, e uma diminuição nos meses de julho e agosto. A maior incidência ocorreu em abril (129 acidentes) e dezembro (122 acidentes), e a menor incidência em agosto (50 acidentes) e setembro (55 acidentes).

Tabela 4: Acidente botrópico segundo o mês do acontecimento, para as cidades de Araguaína, Palmas e Porto Nacional, no período de 2007 a 2019.

MÊS / CIDADE	ARAGUAÍNA	PALMAS	PORTO NACIONAL	TOTAL
JANEIRO	53	32	30	115
FEVEREIRO	43	30	16	89
MARÇO	46	30	28	104
ABRIL	49	41	39	129
MAIO	49	35	27	111
JUNHO	42	20	21	83

JULHO	39	24	13	76
AGOSTO	24	15	11	50
SETEMBRO	27	17	11	55
OUTUBRO	41	27	19	87
NOVEMBRO	35	29	29	93
DEZEMBRO	65	29	28	122

Fonte: SINAN, (2019).

4.2 Relação da média acumulada anual da temperatura, precipitação e avanço agropecuário com o acidente botrópico

A relação da média acumulada anual para temperatura, precipitação e avanço agropecuário com os índices anuais de acidente botrópico foram realizadas para os municípios de Araguaína, Palmas e Porto Nacional. Os resultados anuais para temperatura estavam disponíveis somente para Araguaína e Palmas, portanto, essa análise não foi realizada para o município de Porto Nacional. Quando os valores da temperatura foram submetidos à correlação de Pearson (r) foi constatada correlação fraca para Araguaína ($r= 0,13$) e nenhuma correlação para Palmas ($r= -0,10$) (Figura 9).

A correlação entre a média acumulada anual da precipitação pluviométrica com o acidente botrópico foi fraca para Porto Nacional ($r= 0,12$), negativa para Palmas ($r= -0,42$) e não houve correlação para Araguaína ($r= -0,09$) (Figura 10).

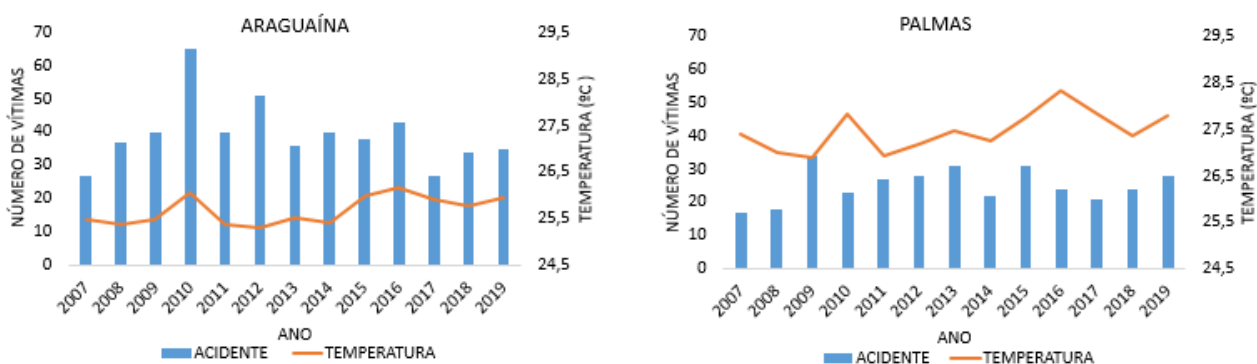


Figura 9: Relação da média acumulada anual para a temperatura com os índices anuais de acidente botrópico, nos municípios de Araguaína e Palmas, no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN/INMET, (2019).

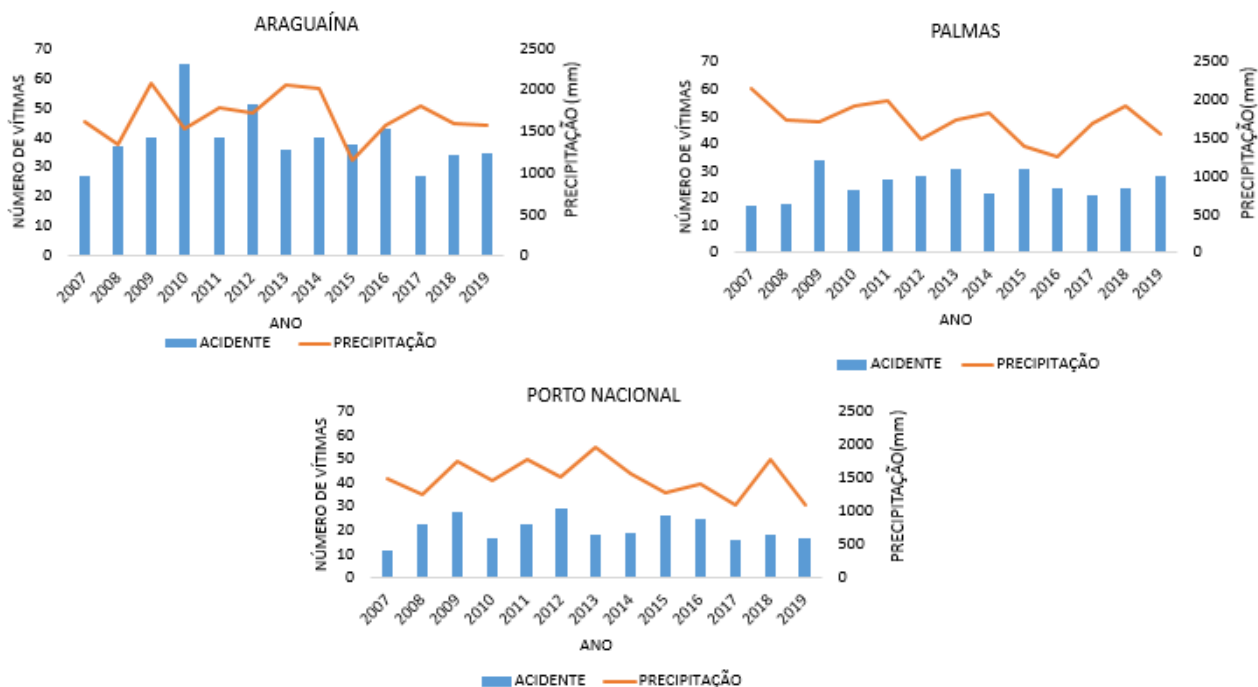


Figura 10: Relação da média acumulada anual da precipitação pluviométrica com os índices anuais de acidente botrótico, para as cidades de Araguaína, Palmas e Porto Nacional, no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN/INMET, (2019).

O avanço agropecuário com o acidente botrótico, nos municípios de Araguaína, Palmas e Porto Nacional, foi submetido à correlação de Pearson (r), com as variáveis de área plantada, produto da lavoura de feijão, mandioca, milho e soja, o PIB-AGRO do município e a quantidade do rebanho bovino (Tabela 5). Os resultados demonstraram, para o município de Araguaína, correlação moderada com a produção de feijão ($r= 0,54$) e correlação fraca para mandioca ($r= 0,30$), milho ($r= 0,37$) e rebanho bovino ($r= 0,27$). Palmas obteve correção moderada para a produção de feijão ($r= 0,45$) e mandioca ($r= 0,41$), e nenhuma correlação foi observada para Porto Nacional.

Quando as médias acumuladas anuais de pluviometria e avanço agrícola (feijão, mandioca, milho e soja) foram associadas para analisar sua correlação com os acidentes ofídicos, foi observada correlação fraca para Araguaína ($r= 0,36$), e nenhuma correlação para Palmas ($r= -0,09$) e Porto Nacional ($r= 0,04$).

Tabela 5: Resultado da análise da correlação de Pearson para a incidência de acidente botrópico segundo variáveis agropecuárias nos municípios de Araguaína, Palmas e Porto Nacional - Tocantins, 2007-2018.

VARIÁVEIS	ARAGUAÍNA	PALMAS	PORTO NACIONAL
ÁREA PLANTADA	r= -0,18	r= -0,08	r= 0,06
FEIJÃO	r= 0,54	r= 0,45	ND*
MANDIOCA	r= 0,30	r= -0,41	r= 0,05
MILHO	r= 0,37	r= -0,20	r= 0,07
SOJA	ND*	r= 0,18	r= 0,02
PIB – AGRO	r= -0,07	r= 0,03	r= 0,17
REBANHO BOVINO	r= 0,27	r= 0,10	r= 0,17

*ND – Não disponível

FONTE: IBGE, (2019).

4.3 Relação da média acumulada mensal da umidade relativa do ar, temperatura do ar e precipitação pluviométrica com o acidente botrópico

A associação da média acumulada mensal para a umidade relativa do ar e da temperatura do ar foram comparadas com os índices mensais de acidente botrópico e houve correlação moderada para Araguaína (r= 0,73) e Porto Nacional (r= 0,76), e correlação forte para Palmas (r= 0,83) (Figura 11).

As maiores precipitações pluviométricas, nos municípios de Araguaína, Palmas e Porto Nacional ocorreram nos meses de janeiro a abril e de outubro a dezembro. O mês de maior precipitação foi fevereiro (17%), e com a menor precipitação foi em agosto (0,2%). Para o acidente botrópico, foram registrados os maiores percentuais no mês de abril (11,6%), enquanto o mês de menor acometimento foi agosto (4,5%), que coincidiu com o mês de menor índice pluviométrico. Foi observado aproximação entre os meses com maior precipitação pluviométrica e maior número de acidentes, e os dados apresentaram correlação moderada para os três municípios (r= 0,67) (Figura 12).

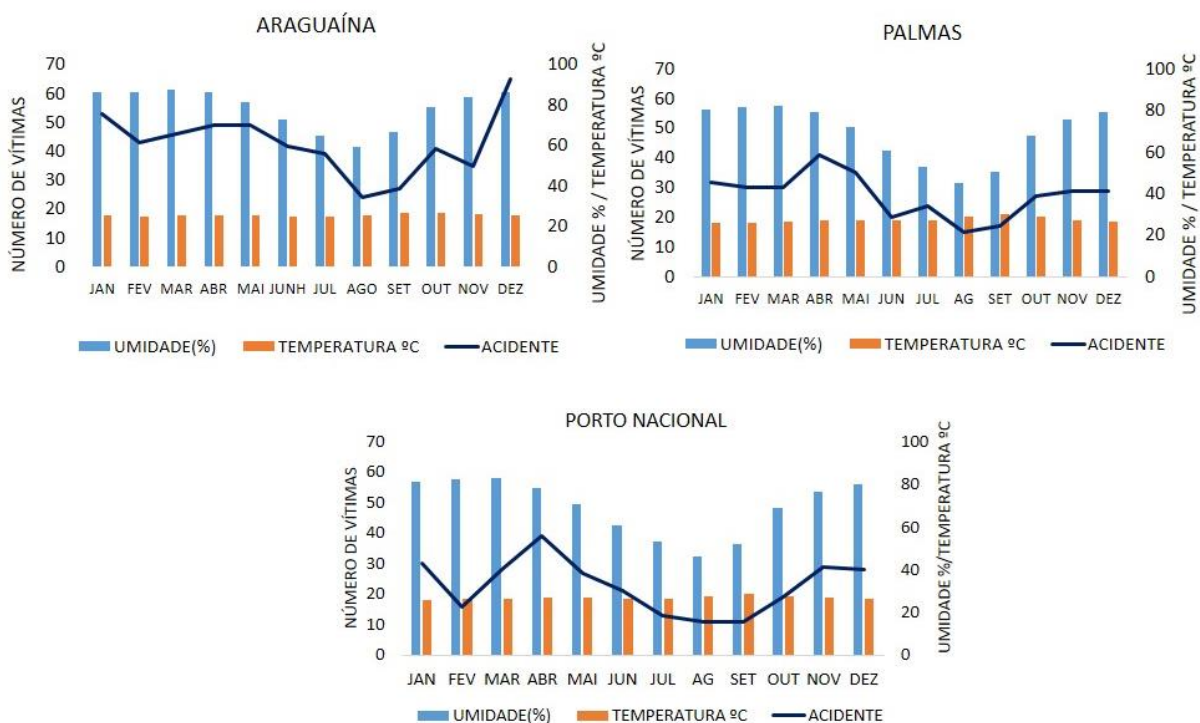


Figura 11: Relação da média acumulada mensal da temperatura do ar e umidade relativa do ar com os índices mensais de acidente botrópico, nos municípios de Araguaína, Palmas e Porto Nacional, no período de 2007 a 2019. Fonte: SINAN/INMET, (2019).

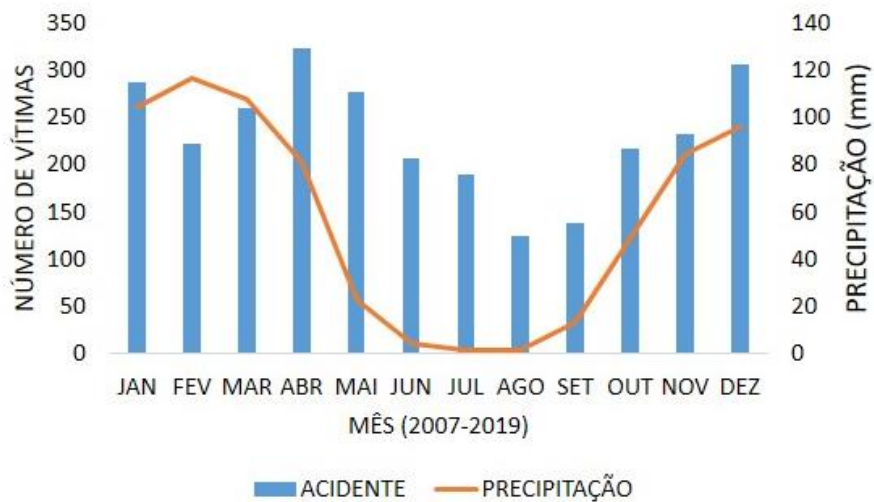


Figura 12: Relação da média acumulada mensal pluviométrica com os índices mensais de acidentes botrópicos, nas cidades de Araguaína, Palmas e Porto Nacional, do Estado do Tocantins, nos anos de 2007 a 2019. Fonte: SINAN/INMET, (2019).

4.4 Toxicidade experimental do veneno de *Bothrops moojeni*

4.4.1 Atividades biológicas do veneno

4.4.1.1 *Atividade coagulante*

Os resultados da DMC e sua neutralização estão apresentados na Tabela 6. A DMC foi analisada sobre o plasma de rato e sobre o fibrinogênio bovino. A dose mínima coagulante para o veneno de *Bothrops moojeni* foi de 130 µg de veneno/mL em plasma de rato e de 75,5 µg de veneno/mL em fibrinogênio bovino.

Na determinação da neutralização da atividade coagulante, utilizaram-se 3x a DMC (390 µg/mL para o plasma de rato) e 2x a DMC (151 µg/mL) para o fibrinogênio bovino. Para 1mg do veneno de *Bothrops moojeni*, a quantidade de antiveneno do Instituto Butantan de 291 µL/mg foi efetiva na neutralização da atividade coagulante no plasma de rato, e a quantidade de 88,7 µL/mg de antiveneno botrópico mostrou-se efetiva na neutralização quando o substrato utilizado foi o fibrinogênio.

Tabela 6: Determinação da Dose Mínima Coagulante (DMC), Dose Desafio e neutralização da atividade coagulante do veneno de *Bothrops moojeni*, em plasma de rato e fibrinogênio bovino.

	DMC	DOSE DESAFIO	NEUTRALIZAÇÃO (DE)*
Plasma de rato	130 µg/mL	390 µg/mL	630 µL/mg
Fibrinogênio	75,5 µg/mL	151 µg/mL	88,7 µL/mg

*Definida como a razão µL de antiveneno/mg de veneno em que o tempo de coagulação corresponde a 3x o tempo de coagulação do plasma incubado apenas com veneno. DE - Dose Efetiva.

4.4.1.2 *Atividade desfibrinogenante*

A Tabela 7 mostra as diferentes concentrações do veneno de *Bothrops moojeni* injetadas em camundongos e a característica do coágulo do sangue após 2 horas de envenenamento. A quantidade de 1,4 µg/camundongo foi determinada como a dose

mínima desfibrinogenante, ou seja, 0,07 mg/kg foi a quantidade mínima do veneno que tornou o sangue dos camundongos incoagulável.

Tabela 7: Determinação da dose mínima desfibrinogenante do veneno da serpente *Bothrops moojeni*.

Concentração de Veneno (mg/Kg)	Característica do Coágulo
0,025	Coágulo Legível
0,036	Coágulo Parcial
0,054	Coágulo Parcial
0,07	Incoagulável
0,14	Incoagulável

Os resultados da neutralização da atividade desfibrinogenante estão apresentados na Tabela 8. Para a neutralização da dose mínima desfibrinogenante do veneno de *Bothrops moojeni*, o antiveneno botrópico produzido no Instituto Butantan mostrou-se efetivo com a quantidade de 1,4 µL para neutralizar 2,8 µg de veneno (2x DMD), ou seja, 500 µL/mg foi a menor razão de µL de antiveneno/mg de veneno que preveniu a incoagulabilidade sanguínea em todos os camundongos envenenados.

Tabela 8: Neutralização da dose mínima desfibrinogenante do veneno de *Bothrops moojeni*.

Concentração de Antiveneno (µL)	Característica do Coágulo
62,5	Incoagulável
125	Coágulo Parcial
250	Coágulo (Diluição parcial do coágulo após 2h)
500	Coágulo Firme

4.4.1.3 Atividade hemorrágica

Os resultados da atividade hemorrágica estão apresentados na Figura 13. A partir da curva dose-resposta de atividade hemorrágica do veneno de *Bothrops moojeni*, foi determinada a DMH. Observou-se uma relação dose-dependente, ou seja, houve aumento da área hemorrágica à medida que aumentou a concentração do veneno. A concentração de veneno capaz de induzir uma lesão hemorrágica, com halo de 10 mm de diâmetro, após 2 horas da administração da injeção, foi de 7,64 µg de veneno, considerada dose mínima hemorrágica para *Bothrops moojeni* do Tocantins.

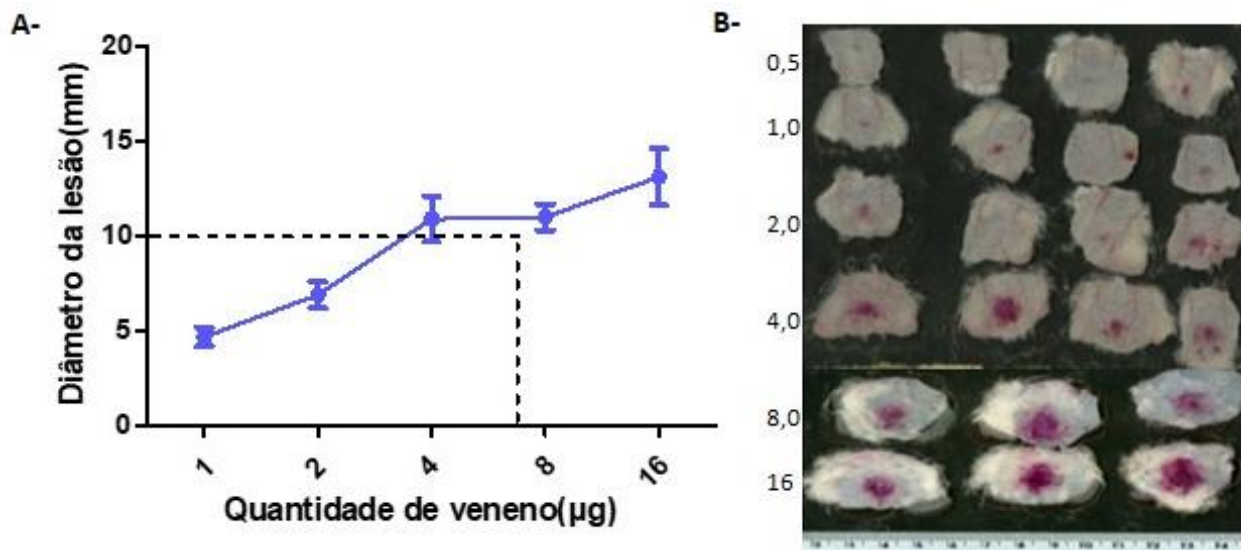


Figura 13: Determinação da Dose Mínima Hemorrágica pelo veneno de serpentes *Bothrops moojeni*. Curva dose-resposta de hemorragia induzida pelo veneno de serpentes *Bothrops moojeni*. A- Grupos de camundongos Swiss (n=24) foram injetados (i.d.) com diferentes quantidades de veneno de 0,5; 1; 2; 4; 8; e 16 µg na região abdominal. Após 2 horas, os animais foram eutanasiados em câmara de CO₂, a pele removida e o diâmetro da lesão hemorrágica mensurado na superfície interna da pele. S.F. 0,90g% estéril foi utilizado como controle negativo. Os valores representam a média ± erro padrão da média dos quatro animais/grupo. A linha tracejada mostra a dose de veneno (7,64 µg/mL) que induziu 10 mm de diâmetro de lesão hemorrágica. B- Fotografia da parte interna da pele dos animais, do halo hemorrágico causado por quantidade de 0,5; 1; 2; 4; 8; e 16µg de veneno de *Bothrops moojeni*, após 2 horas de inoculação.

Os resultados de neutralização da atividade hemorrágica estão apresentados na Figura 14. Para avaliar a capacidade do antiveneno botrópico em neutralizar a hemorragia induzida pelo veneno de *Bothrops moojeni* foram utilizadas quantidades de 380; 190; 95; 47,5 μL do referido antiveneno botrópico, incubados por 30 minutos a 37°C , com 5x DHM do veneno (380 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$). Os testes de neutralização identificaram a dose efetiva (DE) de 308 μL de antiveneno para neutralizar 50% da hemorragia.

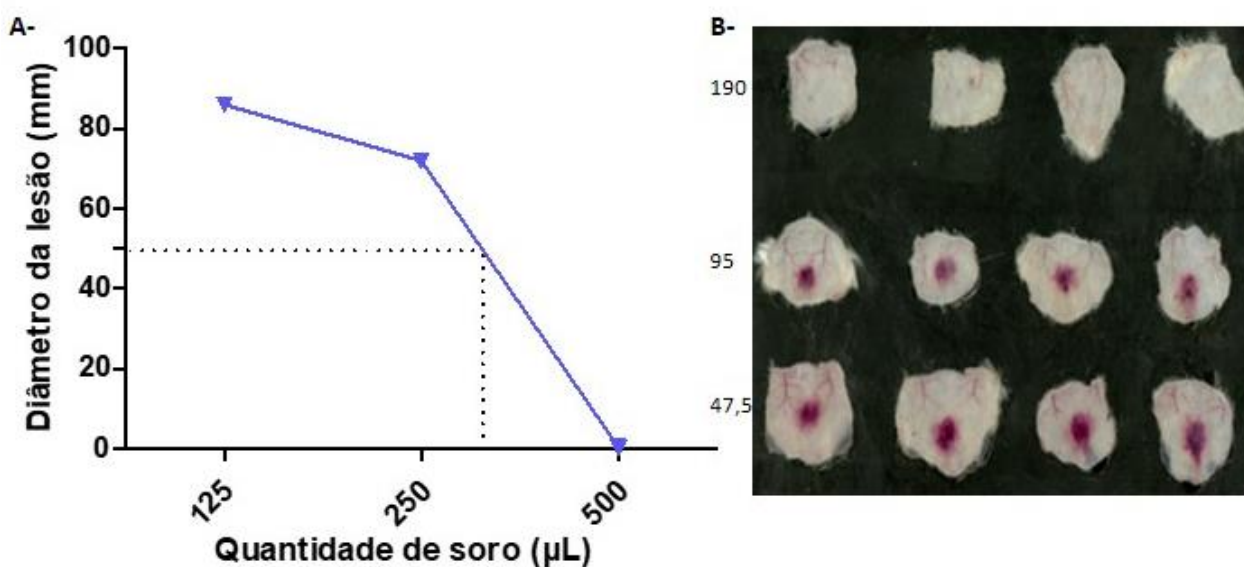


Figura 14: Neutralização da atividade hemorrágica induzida pelo veneno de *Bothrops moojeni*. A- Grupos de camundongos Swiss ($n=16$) foram injetados (i.d.) com uma quantidade de 380 μg de veneno de *Bothrops moojeni*, incubado em diferentes concentrações de antiveneno botrópico a 37°C por 30 minutos. Após 2 horas da administração do veneno, os halos foram mensurados e os diâmetros submetidos à análise estatística, e os valores representam a média \pm erro padrão da média de quatro animais em cada grupo. A linha tracejada mostra a dose de antiveneno que reduziu 50% da área hemorrágica. B- Halo hemorrágico induzido por 380 μg de veneno de *Bothrops moojeni* incubado com diferentes quantidades de antiveneno botrópico (47,5; 95 e 190 μL) do tecido extraído dos camundongos Swiss, após 2 horas da administração das soluções. Fotografia da parte interna da pele dos animais.

4.4.1.4 Atividade edematogênica

O pico da atividade edematogênica foi observado 1h após a injeção de 1 µg de veneno de *Bothrops moojeni*, como pode ser observado na Figura 15. Na atividade edematogênica, para determinar a DME do veneno de serpentes *Bothrops moojeni*, primeiramente foi avaliado o perfil edematogênico induzido por 1 µg de veneno em diferentes períodos de tempo (30 minutos, 1, 3, 6 e 24 horas). Após 1 hora da administração do veneno, observou-se o aumento máximo da espessura das patas dos camundongos, seguido pela redução gradual do edema, mas este se manteve em valores significativamente diferentes do controle, ainda na sexta hora, atingindo valores basais por volta de 24 horas após a injeção do veneno. Utilizou-se, então, o tempo de 1 hora (pico de edema) para determinar a dose mínima edematogênica (DME) do veneno de *Bothrops moojeni*.

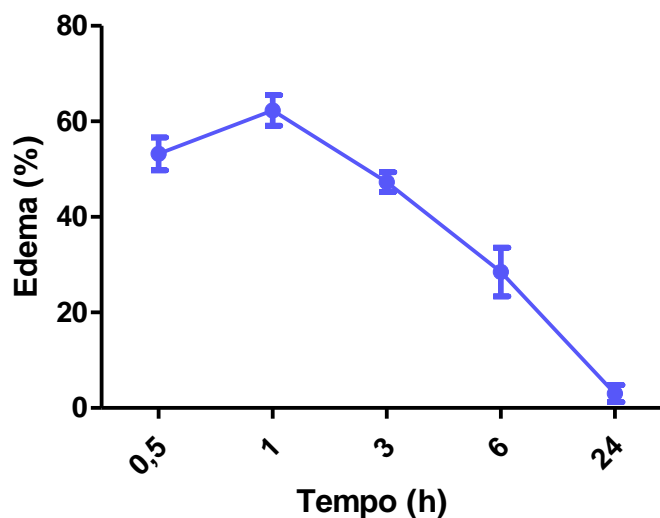


Figura 15: Perfil edematogênico induzido pelo veneno de serpentes *Bothrops moojeni*. Camundongos Swiss (n=5) foram injetados (i.pl.) com 1 µg de veneno de *Bothrops moojeni* na pata direita e o mesmo volume de S.F 0,90g% estéril (40 µL) na pata contralateral. Após diferentes períodos de tempo (0,5; 1; 3; 6; e 24 horas), o edema foi mensurado utilizando um pletismômetro e os resultados expressos como a porcentagem de aumento da espessura da pata direita (envenenada), em comparação com a pata esquerda (controle). Os valores representam a média ± erro padrão da média.

A relação dose-resposta, na atividade edematogênica induzida após 1 hora de injeção (pico do edema) das diferentes quantidades de veneno de *Bothrops moojeni* (0,125; 0,25; 0,5 e 1 µg/pata) pode ser observada na Figura 16. Esse estudo permitiu a seleção e a padronização de uma dose mínima edematogênica para o veneno de *Bothrops moojeni* (dose que induziu 30% de edema em 1 hora), na ordem de 0,29 µg/pata, ou seja, 0,015 mg/kg.

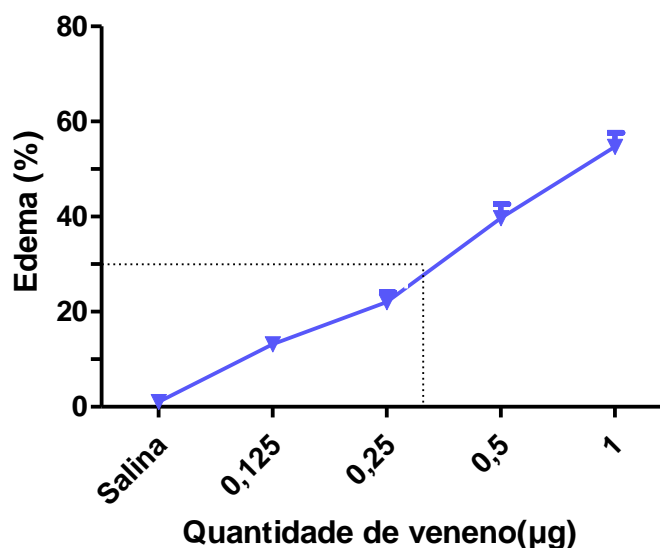


Figura 16: Determinação da DME do veneno de *Bothrops moojeni* – curva dose-resposta de edema induzido por diferentes quantidades de veneno. Grupos de camundongos Swiss (n=5) foram injetados (i.pl.) com diferentes quantidades de veneno de *Bothrops moojeni* (0,125; 0,25; 0,5; e 1 µg) na pata direita e o mesmo volume de S.F 0,90g% estéril (40 µL) na pata esquerda. Após 1 hora, o edema foi mensurado utilizando um pletismômetro e os resultados expressos como a porcentagem de aumento da espessura da pata direita (envenenada) em comparação com a pata esquerda (controle). Os valores representam média ± erro padrão da média de cinco animais em cada grupo. A linha tracejada mostra a dose de veneno (0,175 µg) que induz 30% de edema.

Os resultados da neutralização da atividade edematogênica estão apresentados na Figura 17. Foi selecionada, para a avaliação do efeito do antiveneno botrópico sobre a atividade edematogênica induzida pelo veneno de *Bothrops moojeni*, a quantidade de 1,8 µg de veneno. A quantidade de 630µL do antiveneno botrópico foi considerada efetiva para neutralizar a atividade edematogênica.

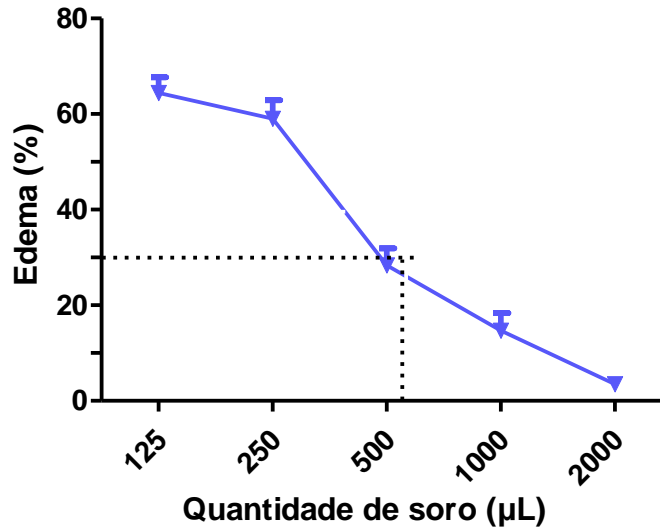


Figura 17: Determinação da neutralização do edema do veneno de *Bothrops moojeni*. Grupos de camundongos Swiss (n=5) foram injetados (i.pl.) com uma quantidade constante de 1,8 µg de veneno, incubado em diferentes concentrações de antiveneno botrópico, a 37°C por 30 minutos, na pata direita, e o mesmo volume de S.F 0,90g% estéril (40 µL) na pata esquerda. Após 1 hora, o edema foi mensurado utilizando um pletismômetro e os resultados expressos como a porcentagem de aumento da espessura da pata direita (envenenada) em comparação com a pata esquerda (controle). Os valores representam a média ± erro padrão da média de cinco animais em cada grupo. A linha tracejada mostra a dose de antiveneno que reduziu 30% do edema (DE).

4.4.1.5 Atividade fibrinolítica

O resultado da atividade fibrinolítica está apresentado na Figura 18. A atividade fibrinolítica mostrou que o veneno de *Bothrops moojeni* foi capaz de degradar diretamente a fibrina, de forma dose dependente na atividade avaliada em placas de fibrina-agarose para as diferentes quantidades de veneno testadas (1, 5 e 10 µg), e obteve-se um halo com médias de 2,2, 3,2 e 3,6 cm², respectivamente.

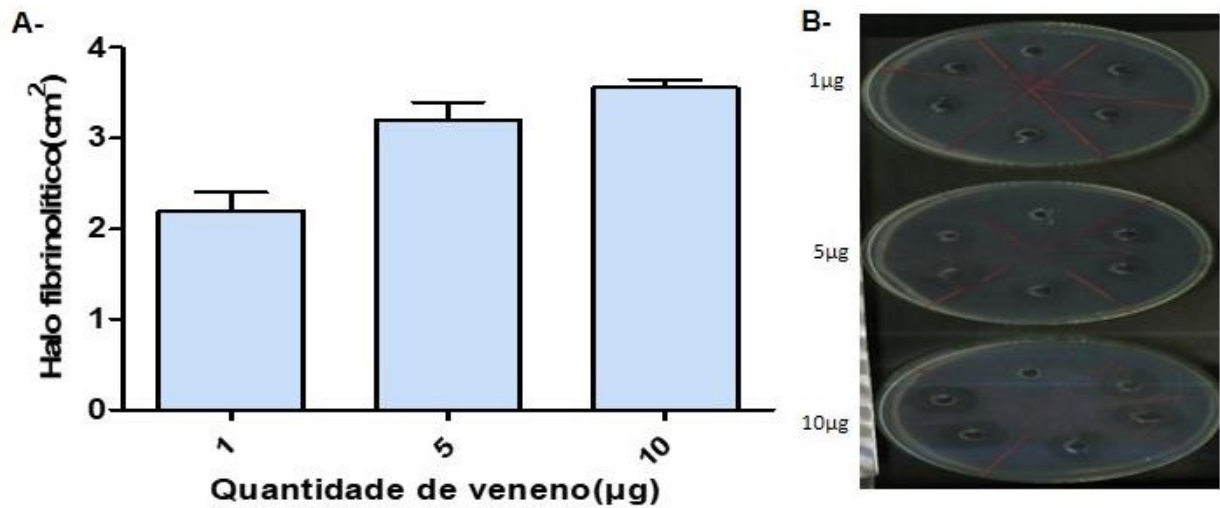


Figura 18: Atividade fibrinolítica do veneno de serpentes *Bothrops moojeni* em placa de fibrina-agarose. A atividade fibrinolítica foi mensurada pelo halo de hidrólise induzido pelas amostras de veneno (1, 5 e 10 µg/mL) em placas de fibrina-agarose (n=5). Como controle, foi utilizada solução fisiológica 0,90g%. Os dados representam a média ± erro padrão da média. A- Resultado da atividade fibrinolítica. B- Fotografia da placa de fibrina-agarose com os halos de hidrólise induzido pelas amostras de veneno (1, 5 e 10 µg/mL).

4.4.1.6 Atividade miotóxica

O efeito miotóxico do veneno de *Bothrops moojeni* está apresentado na Figura 19. Após a administração do veneno no músculo gastrocnêmico de camundongos, foi avaliado por meio da dosagem de Creatina quinase plasmática (CK) o efeito miotóxico do veneno. O veneno de *Bothrops moojeni* foi capaz de aumentar em 3,7 vezes a atividade da enzima CK no plasma de camundongos, quando comparado com o plasma dos animais injetados apenas com S.F. 0,90g% estéril (grupo controle). O nível de CK plasmático variou de $121,82 \pm 10,9$ do grupo controle a $450,73 \pm 23,34$ U/L no grupo dos envenenados. Como o aumento da enzima CK foi baixa, o antiveneno não foi avaliado.

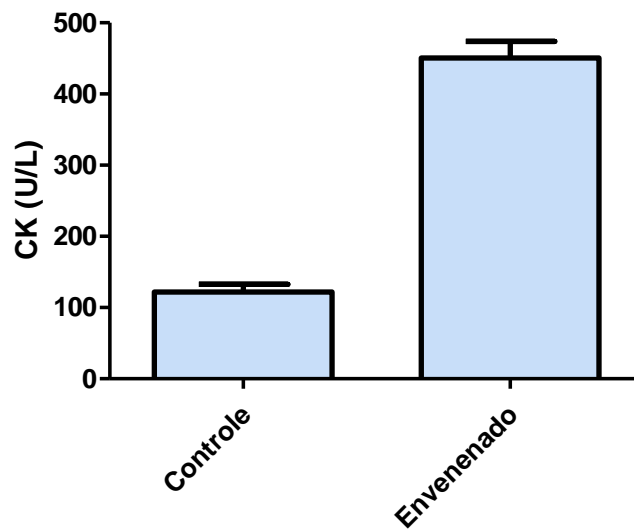


Figura 19: Atividade miotóxica por dosagem de creatina quinase (CK). Camundongos Swiss (n=5) foram injetados com 50 µg de veneno de *Bothrops moojeni* no músculo gastrocêmico. Após 3 horas, o sangue foi coletado e o plasma separado para realização da dosagem de CK. O grupo controle foi injetado i.m. com S.F. 0,90g% estéril.

5 DISCUSSÃO

No Brasil, ocorrem aproximadamente 29 mil acidentes ofídicos anualmente. Esse agravo é considerado um problema de saúde pública devido ao elevado índice e suas consequências às vítimas, causando impactos sociais e econômicos significativos ao país. Na região Norte, ocorre a segunda maior incidência de acidentes ofídicos (24/100.000 habitantes/ano), e o Tocantins é o terceiro estado da região com a maior frequência de acidentes botrópicos, com uma incidência de 6.421 acidentes registrados (49,7/100.000 habitantes/ano), ficando atrás somente do estado do Amazonas, com 10.485 acidentes, e do estado do Pará, com 42.427 acidentes, no período de 2007 a 2016 (ALCÂNTARA *et al.*, 2018; SINAN, 2019). O Tocantins faz parte da região Amazônica, e esse fato contribui para uma grande diversidade de serpentes peçonhentas. O acidente botrópico causa, em média, 3 óbitos por ano (0,4%), equiparável à média nacional (0,45%). As espécies de serpentes do gênero *Bothrops* apresentam grande importância médica nas regiões por onde ocorrem, pois são as espécies que causam mais acidentes ofídicos. Esses animais preferem ambientes úmidos como matas, áreas cultivadas e locais onde haja facilidade para proliferação de roedores.

Segundo Bochner *et al.* (2003) o perfil epidemiológico dos acidentes se manteve inalterado ao longo dos anos, e a maioria desses acidentes é atribuída às serpentes do gênero *Bothrops* e principalmente em pessoas do sexo masculino. Santos *et al.* (2014), Leobas *et al.* (2016) e Parise (2016), mostraram, em seus estudos, que os acidentes botrópicos no Tocantins ocorrem predominantemente em zonas rurais. Isso acontece devido ao envolvimento do trabalhador rural nas atividades socioeconômicas serem as facilitadoras para o contato com as serpentes peçonhentas, uma vez que o trabalhador desenvolve suas atividades laborais próximo ao habitat natural desses animais. São principalmente pessoas do sexo masculino que constituem a maior proporção da força de trabalho. Os acidentes botrópicos também ocorrem quando os indivíduos frequentam ambientes rurais para lazer, como beira de rios e matas, atividade que também propicia o encontro com esses animais.

A maior incidência dos acidentes, neste estudo, também foi em indivíduos do sexo masculino, na faixa etária de 20 a 59 anos (62%) (Figura 6). Essa faixa etária é de uma

população economicamente ativa e corrobora com estudos epidemiológicos realizados em todo Brasil (BOCHNER *et al.*, 2003; PINHO *et al.*, 2008; LIMA, 2009; BERNARDE, 2014; BERNARDE *et al.*, 2015; SANTANA *et al.*, 2015; NOGUEIRA *et al.*, 2016; XIMENES *et al.*, 2018). O fato de a grande incidência dos acidentes ocorrerem na faixa etária de indivíduos que representam a população economicamente ativa reforça a importância do ofidismo como problema de saúde pública, pois pode levar à incapacidade do acidentado, temporária ou permanente (MASUDA *et al.*, 2019).

A maioria dos acidentes botrópicos, neste estudo, foram classificados como leve (42,2%), seguida de moderada (41,2%) e grave (5%) (Figura 7). Esse resultado foi semelhante ao encontrado para o estado do Tocantins por Santos *et al.* (2014). A evolução clínica dos acidentes de ofidismo tem relação direta com a eficiência e a eficácia da terapêutica adotada durante o atendimento nas primeiras horas após o acidente. Apesar dos estudos comprovarem a eficácia do tratamento com antiveneno botrópico, alguns pacientes acidentados ainda evoluem à óbito. Dos 7.906 acidentes botrópicos ocorridos no Tocantins, registrados no período de 2007 a 2019, 33 pacientes foram à óbito. Esse número elevado de óbitos precisa ser investigado na busca de novas terapias coadjuvantes ao antiveneno para o tratamento dos sintomas já instalados, a fim de reduzir esse índice. A caracterização dos fatores favoráveis ao encontro das serpentes também pode colaborar com a prevenção e, conseqüentemente, com a diminuição desses índices.

A variação sazonal na distribuição de acidentes ofídicos, relacionada ao clima, especialmente com a estação das chuvas, à umidade e à temperatura do ar influencia diretamente na ocorrência dos acidentes. A aproximação entre os meses de maiores precipitações pluviométricas com as maiores incidências de acidentes ofídicos também é observada nos estudos de outras regiões do país, como nos estudos de Pinho *et al.* (2008), Bernarde *et al.* (2015), e, no Tocantins, de Leobas *et al.* (2016). Esses trabalhos evidenciaram a sazonalidade como fator determinante para os acidentes ofídicos.

Os acidentes botrópicos ocorreram durante todos os meses nos municípios de Araguaína, Palmas e Porto Nacional, com um crescente aumento nos meses de janeiro, fevereiro, março, abril e maio (chuva), e um declínio de acidentes nos meses de julho, agosto e setembro (seca) (Tabela 4). A espécie *Bothrops moojeni* se torna mais ativa no período chuvoso (outubro a abril), período que aumenta o risco de encontro desses

animais com os humanos, e conseqüentemente, a incidência de acidentes. O aumento dos acidentes botrópicos no período chuvoso também é explicado pela explosão populacional de anfíbios que ocorre nesse período, o que faz aumentar a população de serpentes que se alimentam deles. É o período reprodutivo ideal para a espécie e para o nascimento dos filhotes (março, abril e maio) (ALMEIDA-SANTOS; ORSI, 2002; BERNARDE, 2014).

O número de registro de acidentes com serpentes do gênero *Bothrops* são significativos ao longo dos anos no estado do Tocantins. No período de 2007 a 2019, o município de Araguaína apresentou o maior número de registros (Figura 8), com total de 513 acidentes (6,5%), seguido pela capital Palmas, com total de 329 acidentes (4,2%), e pelo município de Porto Nacional, com 272 acidentes (3,4%) (Figura 8).

Araguaína é o segundo município mais populoso do estado (146.219 habitantes), destacando-se na criação de gado para cria, recria, engorda e abate, na produção leiteira e de produtos agrícolas. De 2007 a 2019, obteve um crescimento agrícola de 327%, passando de 2.832 ha para 8.656 ha de área plantada ou destinada a colheita (IBGE, 2019). Segundo Paula (2010), o município é referência em saúde na região norte do estado do Tocantins, e dos municípios mais próximos dos estados vizinhos. Por esse motivo, os pacientes, vítimas de acidentes por animais peçonhentos, são encaminhados para o Hospital de Doenças Tropicais (HDT), localizado no município, para receber o tratamento específico. O clima de Araguaína é influenciado pela vegetação da Floresta Amazônica. De acordo com os resultados obtidos neste estudo, o município tem temperaturas mais amenas quando comparadas com as temperaturas de Palmas e de Porto Nacional (Figura 11). Possivelmente esse fator esteja relacionado com o índice de acidentes botrópicos na região, uma vez que as serpentes encontram um habitat mais favorável para seu ciclo de vida. Portanto, as temperaturas da região são mais adequadas para as serpentes, e os acidentes atingem os maiores índices quando essas temperaturas estão em torno de 26 °C, como nos anos de 2010 e 2016, e quando a precipitação anual atinge em média 2.000 mm (Figuras 11 e 12). Os resultados corroboram com o estudo de Alcântara *et al.* (2018), realizado na região amazônica, que observaram que o acidente botrópico é mais incidente quando as chuvas são mais intensas e quando ocorre aumento da umidade relativa do ar.

De acordo com Bernarde (2014) e Nogueira *et al.* (2003), as serpentes botrópicas reduzem sua taxa metabólica quando são expostas a condições desfavoráveis do ambiente, como temperaturas acima de 29°C ou abaixo de 24°C. Elas restringem suas atividades concomitante com a ausência de chuvas, quando também ocorre a diminuição de presas disponíveis para se alimentarem. Assim, nos meses de agosto e setembro, no estado do Tocantins, são registradas as maiores temperaturas do ano, com médias acima de 29°C e os menores índices pluviométricos, conseqüentemente, esse período registrou os menores índices de acidentes botrópicos.

Araguaína possui grande atividade agropecuária, a correlação com o acidente botrópico para o município foi moderada para a produção de feijão e leve para mandioca, milho e rebanho bovino (Tabela 5). Contudo, o estudo de Paula (2010) também destaca que, muitos acidentes acontecem na região urbana do município. As modificações no ambiente produzidas pelo homem reduzem os habitats das serpentes e fazem com que esses animais migrem para as cidades em busca de água, alimento e proteção. O enchimento do reservatório de Estreito, por exemplo, alagou uma grande área nessa região, nos anos de 2010 e 2011, e pode ter provocado o deslocamento das serpentes para a área urbana (ZANELLA *et al.*, 2009), facilitando o encontro destas com os humanos.

A capital Palmas possui importantes taxas de crescimento demográfico, e é o município mais populoso do estado (228.085 habitantes) (IBGE, 2015), está entre as capitais mais quentes do Brasil e alcançando temperaturas de até 40°C (Figura 11). O setor de serviços é o principal da economia palmense, com 57,53%, e a agropecuária com 34,59% de participação (IBGE, 2019). Neste estudo, a incidência do acidente botrópico foi comparada com a média acumulada mensalmente da temperatura, pluviometria e umidade relativa do ar na capital, indicando correlação significativa, sendo esses fatores considerados de risco para a ocorrência dos acidentes na capital, como demonstrado nas Figuras 11 e 12. A atividade agrícola em Palmas tem como principal público a agricultura familiar (SEAGRO, 2018), o que pode explicar a correlação moderada do acidente botrópico com a produção de feijão. Entretanto, a capital apresenta muitas opções de lazer próximos às áreas verdes (cachoeiras, trilhas ecológicas, áreas de camping). Estas áreas são muito frequentadas durante o lazer, pela população em geral, o que a aproxima do ambiente das serpentes. Quando a pluviometria

foi comparada anualmente com o acidente botrópico, houve diminuição dos acidentes para os anos com índice pluviométrico mais intensos, uma vez que é esperado que também ocorra redução no uso dos espaços de lazer, no entorno da capital.

O terceiro município com maior registro de acidente ofídico, Porto Nacional, é notável pelo potencial agropecuário, pois, em 2018, teve uma área plantada de 53.677 ha, um crescimento de 293% em relação a 2007 (18.988 ha) (IBGE, 2019), que foi acompanhado pelo crescimento dos acidentes botrópicos no município. De 2007 a 2016, o crescimento desses acidentes foi de 177% (SINAN, 2019). Embora se tenha um aumento dos acidentes botrópicos acompanhados pelo aumento do desenvolvimento agropecuário na região, não foi observada correlação significativa entre as variáveis analisadas, que pode ser explicado pelo uso de lavouras mecanizadas na produção de soja no município, que distanciam o trabalhador do contato direto com as serpentes.

Neste estudo, a análise sazonal da pluviometria, temperatura e umidade relativa do ar, em Porto Nacional, foram estatisticamente comprovadas como fatores de risco para ocorrência dos acidentes botrópicos (Figuras 11 e 12). Apesar do manejo agropecuário não ter apresentado correlação com os acidentes botrópicos, o plantio e a colheita na área rural ocorrem no período chuvoso. Esse padrão é observado para o estado do Tocantins, o plantio ocorre no início das chuvas, nos meses de outubro a novembro e a colheita ocorre entre os meses de janeiro a junho (SEAGRO, 2018). Esse período coincide com os meses de maiores incidências dos acidentes. Esse é um fator importante que deve ser considerado para o acidente botrópico, uma vez que, os acidentes também ocorrem na época destinada ao plantio e à colheita da safra agrícola.

Portanto, as questões climáticas e a atividade agrícola são características importantes a serem consideradas no acidente botrópico, contudo, a variabilidade de cada região deve ser avaliada. Por isso, são necessários estudos que possibilitem analisar esses fatores, a fim de determinar melhor o que influencia os acidentes botrópicos, e reduzir o impacto gerado com o acidente, no homem e nas serpentes.

Quando um indivíduo acidentado é encaminhado às unidades de atendimento, as medidas terapêuticas são tomadas, em geral, por meio dos sintomas apresentados pelo paciente, que logo após o acidente por *Bothrops moojeni* apresenta um quadro inflamatório local. O quadro sistêmico instala-se, e o distúrbio na coagulação, com tempo de coagulação prolongado, é um sintoma apresentado pelas vítimas em todo o país. Isso

acontece devido ao veneno apresentar proteínas com atividade coagulante. Vários estudos isolaram proteínas com essas características. Gomes *et al.* (2009) isolaram a BthMP, enzima que apresentou atividade coagulante. Já Oliveira *et al.* (2016) purificaram uma enzima (BmooSP) que apresentou atividade coagulante no plasma bovino e fibrinogênio. Morais *et al.* (2012) purificaram uma metaloprotease e fibrinogenolítica do veneno de *Bothrops moojeni*, denominada moojenina. Aguiar *et al.* (2019) analisaram o tempo de coagulação de 13 espécimes de *Bothrops moojeni* de várias regiões do Brasil e constataram que todas apresentaram atividade coagulante. Amorim *et al.* (2018) caracterizaram a Moojase, uma potente enzima coagulante do veneno da serpente *Bothrops moojeni*. Oliveira *et al.* (2013) caracterizaram duas serinas proteases, MSP1 e MSP2, com potencial atividade coagulante do plasma. Sartim *et al.* (2016) isolaram e caracterizaram a moojenactivase (MooA), uma metaloprotease do veneno de *Bothrops moojeni*, que induziu a coagulação do plasma humano e fibrinogênio *in vitro*. As alterações hemostáticas são atribuídas à presença dessas enzimas, isoladas e caracterizadas no veneno *Bothrops moojeni*. O consumo total do fibrinogênio plasmático por essas enzimas é observado nos envenenamentos, causando a incoagulabilidade sanguínea (SANO-MARTINS *et al.*, 2009; TORRES *et al.*, 2012; SOUSA *et al.*, 2018).

Distúrbios de coagulação são sintomas clássicos desencadeados pelos venenos das jararacas. Segura *et al.* (2010) analisaram cinco espécies do gênero *Bothrops* da América Latina e constataram atividades coagulantes em todos os venenos estudados. Sousa *et al.* (2018) estudaram a coagulopatia dos venenos das espécies de *Bothrops atrox* de diferentes regiões do Brasil, *Bothrops jararaca* e *Bothrops neuwiedi* da região Sudeste e mostraram que todas as espécies presentes no estudo compartilham das atividades coagulantes.

Portanto, as proteínas encontradas no veneno botrópico provocam o desequilíbrio do sistema hemostático e alteram a coagulação sanguínea, e estão relacionadas com a desfibrinação. As serino proteases (SVSPs) são responsáveis pela atividade coagulante *in vitro* e são encontradas em vários venenos do gênero *Bothrops*. Nossos resultados mostram que o veneno da espécie *Bothrops moojeni* do estado do Tocantins não apenas causou coagulação *in vitro* como também se mostrou desfibrinogenante, sendo capaz de degradar *in vivo* o fibrinogênio plasmático, tornando o sangue dos camundongos incoagulável (Tabela 6). No estudo de Masuda *et al.* (2019), os autores conseguiram

caracterizar um agente desfibrinogenante do veneno da *Bothrops moojeni*, uma serino protease, a batroxobina.

Os resultados obtidos mostram que o antiveneno botrópico foi efetivo na neutralização das atividades coagulante (Tabela 6) e desfibrinogenante (Tabela 8) do veneno de *Bothrops moojeni*. Os estudos de Sousa *et al.* (2013; 2018) também mostraram que o antiveneno botrópico foi eficiente em neutralizar as principais toxinas do veneno de outras espécies do gênero *Bothrops*, como da *Bothrops atrox*, *Bothrops neuwiedi* e *Bothrops jararaca*, em relação à sua atividade coagulante.

A atividade hemorrágica é o efeito sistêmico que causa mais complicações envolvidas nos acidentes dos envenenamentos botrópicos, e pode ocorrer distante do local da picada, e é dependente da quantidade de veneno inoculado (FRANÇA; MÁLAQUE, 2003). O choque cardiovascular e a falência renal aguda são causados pela hemorragia, que é atribuída aos componentes específicos do veneno, denominados hemorraginas, uma fração do veneno botrópico classificado como uma metaloprotease, que é responsável pela atividade hemorrágica por causar o rompimento dos capilares, devido à sua ação direta sobre as paredes desses vasos, fazendo com que aumentem a permeabilidade deles. Este estudo mostrou que o veneno da espécie do Tocantins, *Bothrops moojeni*, possui atividade hemorrágica (Figura 13), corroborando com os estudos de Aguiar *et al.* (2019), Nadur-Andrade *et al.* (2012) e Segura *et al.* (2010).

O antiveneno botrópico foi eficiente na neutralização da atividade hemorrágica. Sousa *et al.* (2013) demonstraram que o antiveneno botrópico também foi eficiente em neutralizar as principais toxinas do veneno de *Bothrops atrox* e *Bothrops jararaca* na atividade hemorrágica. Segura *et al.* (2010) e Oliveira (2014) também obtiveram resultados satisfatórios na neutralização da atividade hemorrágica.

O veneno de *Bothrops moojeni* apresenta uma diversidade de enzimas proteolíticas que induz resposta inflamatória, apresentando atividade edematogênica, que age liberando mediadores químicos como citocinas, causando aumento da permeabilidade das membranas e, conseqüentemente, extravasamento de líquido para o espaço extracelular (FERNANDES *et al.*, 2013; MASUDA *et al.*, 2019). Gomes *et al.* (2009) conseguiram purificar e estudar uma metaloprotease do veneno de *Bothrops moojeni*, que denominaram BthMP. Seus resultados mostraram que essa metaloprotease apresenta alta atividade proteolítica. Já Santos-Filho *et al.* (2008) conseguiram isolar e

caracterizar, em seus estudos, a BmooTX-I do veneno de *Bothrops moojeni*, que foi capaz de induzir edema na pata de camundongos em baixas concentrações.

Neste estudo, foi possível observar que o veneno induziu o edema na pata de camundongos (Figura 15), corroborando com outros estudos realizados em serpentes da mesma espécie em diferentes regiões do país (NADUR-ANDRADE *et al.*, 2012; GOMES *et al.*, 2009). E em outras espécies do mesmo gênero, como *Bothrops Atrox* (Strauch *et al.*, 2019), foi possível observar que o antiveneno botrópico foi eficaz em neutralizar a atividade edematogênica.

Cabe destacar que, em nossos ensaios de neutralização, as toxinas do veneno de *Bothrops moojeni* foram total ou parcialmente neutralizadas no período de incubação com o antiveneno botrópico e, posteriormente, inoculadas nos animais. No acidente botrópico, o quadro inflamatório se manifesta logo após o acidente e dificilmente é revertido. Nesse caso, o tempo que o paciente leva para acessar o atendimento hospitalar é fundamental para minimizar o quadro clínico do envenenamento, bem como estudos que possam alcançar uma terapia mais eficiente para as complicações locais.

O veneno avaliado nesta pesquisa foi capaz de degradar diretamente a fibrina, provocando halos de lise na atividade fibrinolítica, quando aplicado em placas de fibrina (Figura 18). Esse resultado é compatível com os trabalhos de Oliveira *et al.* (2013), que caracterizaram a BmooSP isolada do veneno de *Bothrops moojeni* com atividade fibrinolítica; e de Gomes *et al.* (2009), que conseguiram purificar e estudar uma metaloprotease do veneno de *Bothrops moojeni*, a BthMP, que também apresenta atividade fibrinolítica, provocando halos de lise quando aplicada em placas de fibrina. A Moojase, caracterizada nos estudos de Amorim *et al.* (2018), também foi capaz de induzir a fibrinólise de coágulos de fibrina formados *in vitro* do veneno de *Bothrops moojeni*.

Já a fosfolipase A2, da classe II, possui ação tóxica sobre o tecido muscular, responsável por lesar fibras musculares esqueléticas, ocasionando a liberação de mioglobina e enzimas para o sangue, como creatino quinase (CK), que pode ser detectada no plasma, como um marcador. Os pacientes vítimas de acidentes botrópicos apresentam necrose do tecido muscular, marcado pelo aumento plasmático da enzima creatino fosfoquinase (CK) (MOURA-DA-SILVA *et al.*, 1991; MASUDA *et al.*, 2019). A atividade miotóxica neste estudo foi observada em camundongos envenenados, pois houve aumento plasmático de 3,7 vezes da enzima CK quando comparado ao grupo

controle (Figura 19). No ensaio de miotoxicidade, Moslaves *et al.* (2017) observaram aumento dos níveis plasmáticos de CK pelo veneno da espécie *Bothrops moojeni* (3892,0 ± 340,0 U/L), enquanto os venenos de *Bothrops atrox* (Colômbia e Peru), *Bothrops neuwiedi* (Bolívia) e *Bothrops jararaca* induziram incrementos mais baixos. Queiroz *et al.* (2011) isolaram do veneno de *Bothrops moojeni* a miotoxina fosfolipase A2, denominada BmooMtx, que liberou creatina quinase e provocou intensa mionecrose, com infiltrado visível de leucócitos e células musculares danificadas 24 horas após a administração do veneno. Santos-Filho *et al.* (2008), mostraram em seus estudos, que a enzima BmooTX-I, presente no veneno de *Bothrops moojeni*, induziu aumento da atividade CK e foi capaz de danificar membranas de células musculares. Salvador *et al.* (2019), caracterizaram uma toxina do veneno de *Bothrops moojeni*, a MjTX-I, com efeito miotóxico. Segura *et al.* (2010), avaliaram a atividade miotóxica de diferentes espécies botrópicas, que resultou em diferente quantificação de variações entre eles, corroborando com nossos resultados.

Portanto, os resultados experimentais apresentaram algumas complicações desencadeadas pelo veneno da espécie *Bothrops moojeni*, do estado do Tocantins, e foi possível validar a terapia com o antiveneno botrópico para essas atividades. Contudo pessoas ainda estão morrendo em decorrência das complicações desencadeadas pelo envenenamento. Por isso, são necessários estudos que avaliem melhor as causas desses óbitos e alternativas coadjuvantes que possam ajudar na terapia com o antiveneno tendo em vista a variabilidade da composição desses venenos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O presente trabalho buscou conhecer o perfil epidemiológico dos pacientes acidentados por serpentes do gênero *Bothrops*. Foi verificado um perfil epidemiológico clássico que se reproduz nos acidentes ofídicos de todo o Brasil. Há predominância de acidentes para o sexo masculino, na faixa etária mais ativa da população, de gravidade leve a moderada. Os municípios de maior número de acidentes foram Araguaína, Palmas e Porto Nacional, que também são os municípios com maior número de população.

- A avaliação de alguns dos fatores ambientais, associados ao número de acidentes botrópicos, outra proposta deste trabalho, possibilitou verificar as condições favoráveis ao encontro com esses animais. A ocorrência do acidente botrópico está relacionada aos fatores climáticos sazonais, como pluviosidade, temperatura do ar e umidade relativa do ar. E Araguaína foi o município que apresentou maior correlação dos fatores agropecuários com os acidentes ofídicos. Contudo, sugere-se cuidado redobrado no período de chuva, principalmente para os municípios de maior incidência dos acidentes. No período de chuva, a vegetação cresce rapidamente, recomenda-se limpeza frequente dos espaços próximos às residências para reduzir a possibilidade de abrigo para esses animais. Ainda, evitar exposição de alimentos atrativos para os animais que fazem parte da cadeia alimentar das serpentes. O uso de equipamentos de proteção (botas e luvas) faz-se necessário para prevenir o contato direto com a serpente.

- O veneno de serpentes *Bothrops moojeni* do estado do Tocantins apresentou atividades coagulante, fibrinolítica, desfibrinogenante, edematogênica e hemorrágica, no estudo das atividades locais e sistêmicas desencadeadas pelo veneno. O antiveneno botrópico fornecido pelo Instituto Butantan foi eficiente na neutralização dessas atividades. Portanto, o antiveneno botrópico foi validado para o veneno da espécie *Bothrops moojeni*, que ocorre no território tocantinense.

- Cabe destacar que ainda são necessários estudos para detalhar as causas dos óbitos gerados nesses acidentes e os possíveis tratamentos coadjuvantes à terapia com antiveneno, a fim de minimizar os impactos gerados pelo acidente botrópico.

7 REFERÊNCIAS

- AGUIAR W.S.; GALIZIO N. L. C.; SILVA C. S.; SANTANNA S.S.; GREGO K. F.; TASHIMA A. K.; NISHIDUKA E. S.; ZANI K.M.; AZEVEDO A. M. T.; Comparative compositional and functional analyses of *Bothrops moojeni* specimens reveal several individual variations. *PLoS ONE* 14(9). 2019.
- ALCÂNTARA, J. A., BERNARDE, P. S., SACHETT, J., DA SILVA, A. M., VALENTE, S. F., PEIXOTO, H. M., LACERDA, M., OLIVEIRA, M. R., SARAIVA, I., SAMPAIO, V. S., & MONTEIRO, W. M. Stepping into a dangerous quagmire: Macroecological determinants of *Bothrops* envenomings, Brazilian Amazon. *PloS one*, 13(12), 2018.
- ALMEIDA-SANTOS, S. M. ORSI, A. M. Ciclo reprodutivo de *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (Serpentes Viperidae): morfologia e função dos ovidutos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* Vol. 26:109-112. São Paulo, 2002
- AMORIM F. G.; MENALDO D.L.; SANTE E. I.; SILVA T.A.; SARTIM M. A.; SAMPAIO S. V. New Insights on Moojase, a Thrombin-Like Serine Protease from *Bothrops moojeni* Snake Venom. *Toxins*, 10, 500. 2018.
- AMORIM, F. G., COSTA, T. R., BAIWIR, D., DE PAUW, E., QUINTON, L., SAMPAIO, S. V. Proteopectidomic, Functional and Immunoreactivity Characterization of *Bothrops moojeni* Snake Venom: Influence of Snake Gender on Venom Composition. *Toxins*, 10(5), 177. 2018.
- BERNARDE, P. S.; GOMES, J. O. Serpentes peçonhentas e ofidismo em Cruzeiro do Sul, Alto Juruá, Estado do Acre, Brasil. *ACTA AMAZÔNICA*, Acre, v. 42(1), p. 65 – 72, 2012.
- BERNARDE, P. S.; MOTA-DA-SILVA A.; ABREU L. C. Ofidismo no estado do Acre – Brasil. *Journal of Amazon Health Science*, Cruzeiro do Sul - Acre, v. 1, n. 2, 2015.
- BERNARDE, P. S. Mudanças na classificação de serpentes peçonhentas brasileiras e suas implicações na literatura médica. *Gazeta Médica da Bahia*, n. 1, 2011.
- BERNARDE, P. S. Serpentes peçonhentas e acidentes ofídicos no Brasil. São Paulo: *Anolis Books*, 2014.
- BERNARDES, C. P.; SANTOS-FILHO, N. A.; COSTA, T. R.; GOMES, M. S. R.; TORRES, F. S.; COSTA, J.; BORGES, M. H.; RICHARDSOND, M.; SANTOS, D. M.; PIMENTA, A. M. C.; HOMSI-BRANDEBURGO, M. I.; SOARES, A. M.; OLIVEIRA, F. Isolation and structural characterization of a new fibrin(ogen)olytic metalloproteinase from *Bothrops moojeni* snake venom. *Toxicon*, 51, 574-584. 2008.
- BÉRNILS, R. S.; COSTA, H. C. Brazilian Reptiles: List of Species. *Sociedade Brasileira de Herpetologia*, 2015.

- BOCHNER, R.; STRUCHINER, C. J. Epidemiologia dos acidentes ofídicos nos últimos 100 anos no Brasil: uma revisão. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 19, n. 1, p. 7-16, 2003.
- BORGES, R. C.; ARAÚJO, A. F. B. Seleção de habitat em duas espécies de jararaca (*Bothrops moojeni* e *B. neuwiedi* Wagler) (Serpentes Viperidae). *Rev. Brasil. Biol.* v. 58, n. 4, p. 591-601, 1998.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos, Brasília, 131p, 2001.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos. Fundação Nacional de Saúde, 1998.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. 8ª edição revista BRASÍLIA/DF, 2010.
- BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Plano de ação para prevenção e controle do desmatamento e das queimadas: cerrado. Brasília: MMA, 2011.
- BRIDGEWATER, S.; RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F. Biogeographic patterns, β -diversity and dominance in the cerrado biome of Brazil. *Biodiversity and Conservation, Kluwer Academic Publishers*, v. 13, p. 2295-2318, 2004.
- CAVALCANTI, R.B.; CARDINOT, G.; CEOTTO, P.; PINHEIRO, R.S. Biomas brasileiros: retratos de um país plural. Rio de Janeiro: Casa da Palavra Produção Editorial e Conservação Internacional. p.57-91, 2012.
- DANCEY, C.; REIDY, J. Estatística Sem Matemática para Psicologia: Usando SPSS para Windows. Porto Alegre, Artmed Editora. 2006.
- FERNANDES DE OLIVEIRA, L. M.; ULLAH, A.; MASOOD, R.; ZELANIS, A.; SPENCER, P. J.; SERRANO, S. M.; ARNI, R. K. Rapid purification of serine proteinases from *Bothrops alternatus* and *Bothrops moojeni* venoms. *Toxicon*. 76, (282–290). 2013.
- GOMES, M. S. R.; MENDES M. M.; OLIVEIRA F.; ANDRADE R. M.; BERNARDES C. P.; HAMAGUCHI, A.; ALCÂNTARA T. M.; SOARES A. M.; RODRIGUES V. M.; HOMSI BRANDEBURGO M. I. BTHMP: a new weakly hemorrhagic metalloproteinase from *Bothrops moojeni* snake venom. *Toxicon*, Vol. 53 (24–32), 2009.
- GUTIÉRREZ, T. M.; THEAKSTON, R. D. G.; WARRELL, D. A. Confronting the neglected problem of snake bite envenoming: The need for global partnership. *PLOS MED.* v.3(6), p. 737-731, 2006.

GUTIÉRREZ, J. M. Envenamientos por mordeduras de serpentes em América Latina e Caribe: Uma visão integral de caracter regional. *Boletín de malariología y salud ambiental*. Vol I. p 1-16. 2011.

INMET, Instituto Nacional de Meteorologia. BDMEP – Dados históricos (www.inmet.gov.br). 2019

INSTITUTO Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Mapa de Biomas e de Vegetação. Disponível em: <Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)>. Acesso em: 20 Jul 2018.

IPAM - Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia. Desmatamento no Cerrado em 2016 e 2017, 2018.

JESPERSEN, J.; ASTRUP, T. A Study of the fibrin plate Assay of fibrinolytic agents. *Haemostasis*, v. 13, p. 301-315, 1983.

LEOBAS G. F.; FEITOSA, S. B.; SEIBERT, C. S. Acidentes por animais peçonhentos no Estado do Tocantins: aspectos clínico-epidemiológicos. *DESAFIOS: Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins*, v. 2. n. 2, p.2 69-282, jan/jun. 2016.

LIMA, A. C. S. F.; CAMPOS, C. E. C.; RIBEIRO, J. R. Perfil epidemiológico de acidentes ofídicos do Estado do Amapá. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 42, n. 3, p. 329-335, 2009.

LIMA, J. S. Perfil dos acidentes ofídicos no norte do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Belo Horizonte, v, 42, n. 5, p. 561-564, set. out., 2009.

MARTINS, M; MARQUEZ, O. A., SAZIMA, I. Ecological and phylogenetic correlates of feeding habits in Neotropical pitvipers (*Bothrops*). In: SHUETT G. W.; HOGGREN, M.; DOUGLAS M. E.; GREENE H. W. *Biology of the Vipers. Carmel Indiana: Eagle Mountain*, 2002.

MASUDA, H., SATO, A., SHIZUNO, T., YOKOYAMA, K., SUZUKI, Y., TOKUNAGA, M., & ASAHARA, T. Batroxobin accelerated tissue repair via neutrophil extracellular trap regulation and defibrinogenation in a murine ischemic hindlimb model. *PloS one*, 14(8), 2019.

MELGAREJO, A. R. Serpentes peçonhentas do Brasil. In: Cardoso J.L.C., França F.O.S., Wen F.H., Málaque C.M.S. & Haddad Jr V. (Eds), *Animais Peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes*. *Sarvier Editora*, p.42-69. São Paulo, 2003.

MORAIS, N. C. G., MAMEDE, C. C. N., FONSECA, K. C., QUEIROZ, M. R., GOMES-FILHO, S. A., SANTOS-FILHO, N. A., BORDON, K. C. F., BELETTI, M. E., SAMPAIO, S. V., ARANTES, E. C., OLIVEIRA, F. Isolation and characterization of moojenin, an acid-

active, anticoagulant metalloproteinase from *Bothrops moojeni* venom. *Toxicon* 60, (1251e1258). 2012.

MOREIRA, J. P. L.; MORATO, R. G. Incidência e ocorrência de ataques ofídicos no Brasil em 2012, *I Simpósio Mineiro de Geografia*. Alfenas, 2014.

MOSLAVES, I. S. B.; XIMENES, T.; VASCONCELO, S. B. S.; PORTUGUAL, L. C.; FILIÚ, W. F. O.; CAROLLO, C. A.; KADRI, M.C.T. Avaliação da ação antiofídica do especiosídeo isolado de *Tabebuia aurea* em camundongos injetados com o veneno de *Bothrops moojeni*. *PECIBES*, Mato Grosso do Sul, v. 3, p. 45-53, 2017.

MOURA-DA-SILVA A. M.; DESMOND H.; LAING G.; THEKSTON R. D. G. Isolation and comparison of myotoxins isolated from venoms of different species of *Bothrops* snakes. *Toxicon*, v.29, p713-723, 1991.

NADUR-ANDRADE, N., A. M. BARBOSA, F. P. CARLOS, C. J. LIMA, J. C. COGO AND S. R. ZAMUNER. Effects of photobiostimulation on edema and hemorrhage induced by *Bothrops moojeni* venom. *Lasers Med. Sci.* v. 27, p. 65–70, 2012

NOGUEIRA, C.; MARQUES, O.; ETEROVIC, A.; SAZIMA, I. Serpentes do cerrado. *Holos editora*, 2016.

NOGUEIRA, C.; SAWAYA, R.J.; MARTINS, M. Ecology of the Pitviper, *Bothrops moojeni*, in the Brazilian Cerrado. *Journal of Herpetology*, v.37, n.4, p. 653-659, 2003.

NOGUEIRA, C. C.; ARGÔLO J. S. A.; ARZAMENDIA V.; AZEVEDO A. .; BARBO E. F.; BÉRNILS S. R.; BOLOCHIO E. B.; BORGES-MARTINS M.; BRASIL-GODINHO M.; BRAZ H.; BUONONATO A. M.; CISNEROS-HEREDIA D. F.; COLLI G. R.; COSTA H. C.; FRANCO F. L.; GIRAUDO A.; RODRIGO C. GONZALEZ R. G.; GUEDES T.; HOOGMOED M. S.; MARQUES O. A. V.; MONTINGELLI G. G.; PASSOS P.; PRUDENTE A. L. C.; RIVAS G. A.; PAOLA M.; SANCHEZ P. M.; SERRANO F. C.; JÚNIOR N. J. S.; STRÜSSMANN C.; VIEIRA-ALENCAR J. P. S.; ZAHER H.; SAWAYA R. J.; MARTINS M. Atlas of Brazilian Snakes: Verified Point-Locality Maps to Mitigate the Wallacean Shortfall in a Megadiverse Snake Fauna. *South American Journal of Herpetology*, v. 14, p. 1-274, 2019.

OLIVEIRA, R. B.; RIBEIRO, L. A., JORGE, M. T. Fatores associados à incoagulabilidade sanguínea no envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops*. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 657-663, 2003.

OLIVEIRA, S. S. Biological activities of *Bothrops atrox* snake venom captured at Floresta Nacional do Tapajós, Western Pará. 2014. 83 p. Master Thesis (Toxinology). *Instituto Butantan*, São Paulo, 2014.

OLIVEIRA, F.; SOUSA B. B.; MAMEDE C. C.; MORAIS N.C.G.; QUEIROZ M.R.; PEREIRA D. F. C.; MATIAS M. S.; BRANDEBURGO M. I. H. Biochemical and functional

characterization of BmooSP, a new serine protease from *Bothrops moojeni* snake venom. *Toxicon* vol. 111 (130 e138), 2016.

OLIVEIRA, L. M. F., ULLAH, A., MASOOD, R., ZELANIS, A., SPENCER, P. J., SERRANO, S. M. T., ARNI, R. K. Rapid purification of serine proteinases from *Bothrops alternatus* and *Bothrops moojeni* venoms. *Toxicon* 76, (282 e 290). 2013.

PARISE, E. V. Vigilância e monitoramento dos acidentes por animais peçonhentos no município de Palmas, Tocantins, Brasil. *HYGEIA - Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde*, v. 12, n. 22, p. 72-87, 2016.

PAULA, R. C. M.F. Perfil epidemiológicos do casos de acidentes ofídicos atendidos no Hospital de Doenças Tropicais de Araguaína-TO (Triênio 2007-2009). São Paulo: Universidade de São Paulo, 104p. Dissertação (mestrado), Universidade de São Paulo, São Paulo. 2010.

PINHEIRO, E. S. Análises Ecológicas e sensoriamento remoto aplicados à estimativa de fitomassa de cerrado na Estação Ecológica de Assis, SP. Tese de Doutorado apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Carlos. São Carlos, SP. 192 p., 2008.

PINHO, F. M. O.; OLIVEIRA, E. S.; FALEIROS, F. Acidente ofídico no estado de Goiás. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 50, n. 1, 2004.

PINHO, F. M. O.; YU, L.; BURDMANN, E. A. Snakebite-induced acute kidney injury in Latin America. *Semin Nephrol*, v. 28, n. 4, p. 354-62, 2008.

RAW, I.; GUIDOLIN, R.; HIGASHI, H. G. I.; KELEN, E. M. A. Antivenins in Brazil: preparation, p. 557-581. In: A.T. TU. *Handbook of natural toxins*. New York, Marcel Dekker, vol. 15, 832p., 1991.

RIBEIRO, L. A. Epidemiology of ofidic accidents. *Mem. Instituto Butantan*, 52(supl), p15-16, 1990.

RODRIGUES, V. M.; SOARES, A. M.; MANCINI, A. C.; FONTES, M. R. M.; HOMSI-BRANDEBURGO, M. I.; GIGLIO, J. R. Geographic variations in the composition of myotoxins from *Bothrops neuwiedi* snake venoms: biochemical characterization and biological activity. *Comparative Biochemistry and Physiology, Oxford*, 121, p.215-222, 1998.

SALVADOR, G., DREYER, T. R., GOMES, A., CAVALCANTE, W., DOS SANTOS, J. I., GANDIN, C. A., DE OLIVEIRA NETO, M., GALLACCI, M., FONTES, M. Structural and functional characterization of suramin-bound MjTX-I from *Bothrops moojeni* suggests a particular myotoxic mechanism. *Scientific reports*, 8(1), 10317. 2018.

SANO-MARTINS, I. S.; SANTORO, M. L. Distúrbios hemostáticos em envenenamentos por animais peçonhentos no Brasil. In: CARDOSO, J. L.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.;

MÁLAQUE, C. M. S.; JR, V. H. *Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica*. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2009.

SANTANA, V. T. P.; SUCHARA, E. A. Epidemiologia dos acidentes com animais peçonhentos registrados em Nova Xavantina – MT. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, v. 5, p. 141-146, 2015.

SANTOS, A. L.; FEITOSA, S. B.; SANO-MARTINS, I. S.; MORENA, D. D. S; SEIBERT, C. S. Estudo retrospectivo dos acidentes por serpentes atendidos no Hospital Geral de Palmas -TO, no período de 2010 e 2011. *Desafios: Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins – Palmas*, v. 1, n. 1, p. 226-244, 2014.

SANTOS-FILHO, N; SILVEIRA, L.; OLIVEIRA, C.; BERNARDES, C. P.; MENALDO, D.; FULY, A.; ARANTES, E.; SAMPAIO, S.; MAMEDE, C.; BELETTI, M. A new acidic myotoxic, anti-platelet and prostaglandin I₂ inducer phospholipase A₂ isolated from *Bothrops moojeni* snake venom. *Toxicon*, v. 52, p. 908-917, 2008.

SANTOS, P. R.; PINHEIRO, P. L.; RAMOS R. C.; CARDOZO F. S.; PEREIRA G. Análise da incidência dos focos de queimada e sua relação com o uso e cobertura da terra no Bioma Cerrado. *INPE*. João Pessoa-PB, 2015.

SARTIM, M. A.; COSTA T. R.; LAURE H. J.; ESPÍNDOLA M. S.; FRANTZ F. G.; SORGI C. A.; CINTRA A. C.; ARANTES E. C.; FACCIOLI L. H.; ROSA J. C.; SAMPAIO S. V. Moojenactivase, a novel pro-coagulantPIIId metalloprotease isolated from *Bothrops moojeni* snake venom, activates coagulation factors II and X and induces tissue factor up-regulation in leukocytes. *Arch Toxicol*, v. 90, n. 5, p. 1261-78, 2016.

SHARMA P. Inhibitors in Coagulation. In: Saxena R., Pati H. (eds) *Hematopathology*. Springer, Singapore, 2019.

SEAGRO. Agricultura, 2018. Disponível em: <<https://seagro.to.gov.br/agricultura/>>.

SEGURA, A. ; CASTILLO, M. C. ; NÚÑEZ, V. ; YARLEQUÉ, A. ; GONÇALVES, L. R. C. ; VILLALTA, M. ; BONILLA, C. ; HERRERA M. VARGAS M.; FERNÁNDEZ M.; YANO M.Y.; ARAÚJO H.P.; BOLLER M.A.A.; LEÓN P.; TINTAYA B.; SANO-MARTINS I.S.; GÓMEZ A.; FERNÁNDEZ G.P.; GEOGHEGAN P.; HIGASHI H.G.; LEÓN G.; GUTIÉRREZ J.M. Preclinical assessment of the neutralizing capacity of antivenoms produced in six Latin American countries against medically-relevant *Bothrops* snake venoms. *Toxicon*. v. 56, p. 980-989, 2010.

SEPLAN. Mapeamento das regiões fitoecológicas e inventário florestal do Estado do Tocantins–Plano de uso da Vegetação Do Tocantins, 2013.

SERRANO, S. M.; MATOS, M. F.; MANDELBAUM, F. R.; SAMPAIO, C. A. Basic proteinases from *Bothrops moojeni* (caissaca) venom–I. Isolation and activity of two serine proteinases, MSP 1 and MSP 2, on synthetic substrates and on platelet aggregation. *Toxicon* 31, 471–481. 1993.

SERRANO, S. M. T.. The long road of research on snake venom serine proteinases. *Toxicon* (Oxford), v. 62, p. 19-26, 2013.

SINAN/SVS/MS. Sistema de Informação de Agravos de Notificação– SINAN, Ministério da Saúde, 2019.

SINITOX. Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas, 2010.

SILVA, R. C. C. O ambiente e a diversidade das serpentes no estado do Tocantins - Brasil Palmas – TO. 155 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências do Ambiente, *Programa de Pós-graduação*, Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2017.

SOUSA, L. F., NICOLAU, C. A., PEIXOTO, P. S., BERNARDONI, J. L., OLIVEIRA, S. S., PORTES-JUNIOR, J. A., MOURÃO, R. H., LIMA-DOS-SANTOS, I., SANO-MARTINS, I. S., CHALKIDIS, H. M., VALENTE, R. H., MOURA-DA-SILVA, A. M. Comparison of phylogeny, venom composition and neutralization by antivenom in diverse species of bothrops complex. *PLoS Negl Trop Dis*7(9):e2442. 2013.

SOUSA L. F., ZDENEK C. N., DOBSON J. S., OP DEN BROUW B., COIMBRA F., GILLET A., DEL-REI T. H. M., CHALKIDIS H. M., SANTÂNNA S., TEIXEIRA-DA-ROCHA M. M., GREGO K., TRAVAGLIA CARDOSO S. R., MOURA DA SILVA A. M., FRY B. G. Coagulotoxicity of *Bothrops* (Lancehead Pit-Vipers) Venoms from Brazil: Differential Biochemistry and Antivenom Efficacy Resulting from Prey-Driven Venom Variation. *Toxins*, Oct 11;10(10):411. 2018.

STRAUCH, M. A., TOMAZ, M. A., MONTEIRO-MACHADO, M., CONS, B. L., PATRÃO-NETO, F. C., TEIXEIRA-CRUZ, J., TAVARES-HENRIQUES, M., NOGUEIRA-SOUZA, P. D., GOMES, S., COSTA, P., SCHAEFFER, E., DA SILVA, A., & MELO, P. A. Lapachol and synthetic derivatives: in vitro and in vivo activities against Bothrops snake venoms. *PLoS one*, 14(1), 2019.

THEAKSTON, R.D.G.; REID, H. A. Development of simple standard assay procedures for the characterization of snake venoms, *Bull World Health Organ* 61(6): 949–956. 1983.

THEAKSTON, R. D. G.; WARRELL, D. A. B.; GRIFFITHS E. Report of a WHO workshop on the standardization and control of antivenoms. *Tox* 41: 541-57. 2003.

TORRES, F. S., RATES, B., GOMES, M. T. R., SALAS, C. E., PIMENTA, A. M. C., OLIVEIRA, F., SANTORO, M. M., DE LIMA, M. E., 2012. Bmoo FIBMP-I: a new fibrinogenolytic metalloproteinase from *Bothrops moojeni* snake venom. *Int. Sch. Res. Netw. Toxicol* (1 e 10). 2012.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. List of neglected tropical diseases. Disponível em http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/. 2014; Acessado em 17/07/2018.

XIMENES, L. M. A. D. S.; SANTOS, L.; SANTOS, M. Perfil dos acidentes ofídicos ocorridos no município de Alta Floresta - Mato Grosso. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer*- Goiânia, v. 15, p. 1458, 2018. ISSN DOI:10.18677/EnciBio_2018A125.

ZANELLA, N.; CECHIN, S. Z. Influência dos fatores abióticos e da disponibilidade de presas sobre comunidade de serpentes do Planalto Médio do Rio Grande do Sul. *Iheringia, Sér. Zoologia*. Porto Alegre, 99(1):111-114, 2009.