



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**ENVENENAMENTO BOTRÓPICO NATURAL FATAL EM EQUINOS NO
CENTRO-OESTE DO BRASIL: CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA,
CLÍNICO-PATOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL**

MIZAEL MACHADO DA COSTA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

BRASÍLIA - DF
SETEMBRO DE 2019



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**ENVENENAMENTO BOTRÓPICO NATURAL FATAL EM EQUINOS NO
CENTRO-OESTE DO BRASIL: CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA,
CLÍNICO-PATOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL**

MIZAEEL MACHADO DA COSTA

LINHA DE PESQUISA: SANIDADE DOS ANIMAIS DE PRODUÇÃO
ORIENTADOR: PROF. DR. MÁRCIO BOTELHO DE CASTRO
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. FRANKLIN RIET-CORREA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO 215/2019

BRASÍLIA - DF
SETEMBRO DE 2019

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA CATALOGAÇÃO

COSTA, M. M. Envenenamento botrópico natural fatal em equinos no Centro-Oeste do Brasil: caracterização epidemiológica, clínico-patológica e ultraestrutural. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília. 2019, 58 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor e o seu orientador reservam para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou do seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Me Machado da Costa , Mizael
ENVENENAMENTO BOTRÓPICO NATURAL FATAL EM EQUINOS NO CENTRO-OESTE DO BRASIL: CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA, CLÍNICO-PATOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL / Mizael Machado da Costa ; orientador Márcio Botelho de Castro; co-orientador Franklin Riet-Correa. -- Brasília, 2019.
58 p.

Dissertação (Mestrado - Mestrado em Ciência Animal) -- Universidade de Brasília, 2019.

1. Envenenamento botrópico natural fatal. 2. Equinos . 3. Centro-Oeste . 4. Patologia Animal. I. Botelho de Castro, Márcio, orient. II. Riet-Correa, Franklin , co-orient. III. Título.

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

ENVENENAMENTO BOTRÓPICO NATURAL FATAL EM EQUINOS NO CENTRO OESTE DO BRASIL: CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA, CLÍNICO PATOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL

MIZAEEL MACHADO DA COSTA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS ANIMAIS, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS ANIMAIS.

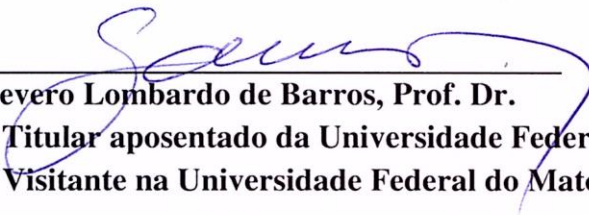
APROVADO POR:



Márcio Botelho de Castro, Prof. Dr – Orientador
Universidade de Brasília – UnB
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - FAV



José Renato Junqueira Borges, Prof. Dr.
Universidade de Brasília – UnB
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - FAV



Claudio Severo Lombardo de Barros, Prof. Dr.
Professor Titular aposentado da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM
Professor Visitante na Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS

BRASÍLIA/DF, 10 DE SETEMBRO, DE 2019.

Dedico esse trabalho a minha família!

AGRADECIMENTOS

Sou eternamente grato ao Grande Arquiteto do Universo, o Deus todo poderoso, que protegeu todos os meus passos nessa longa caminhada. Fonte de força, saúde e motivação.

A minha amada família, que por meio de muito esforço conjunto me deu a oportunidade de estudar e escolher o meu caminho. Toda minha dedicação e conquistas, eu dedico a vocês. Meus estimados: José Machado, Eurípedes Machado, Ana Batista, Eliana Machado, Lia Machado, Fauze Machado e Gabriel Machado.

Este trabalho é fruto do esforço conjunto de colegas de várias partes da América, cada parte textual foi carinhosamente pensada para que expressasse a informação em sua totalidade.

Agradeço em especial aos meus irmãos e amigos, Taís Meziara Wilson e Davi Emaunel Ribeiro de Sousa, que tem fundamental participação na condução dos casos por nós recebidos e na elaboração do trabalho. Minha equipe!

Agradeço ao meu orientador e amigo Dr. Márcio Botelho de Castro, por ter me dado a oportunidade e a liberdade de desenvolver esse tema.

Ao meu co-orientador Dr. Franklin Riet-Correa (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria – INIA – Uruguai), grande mestre, pelo apoio técnico fundamental para a melhoria do trabalho.

Ao Dr. Severo Sales de Barros, mestre dos mestres, que gentilmente nos auxiliou com as interpretações das figuras de microscopia eletrônica sobre esse tema. Descrições de lesões de ofidismo em animais, principalmente as de ultraestrutura são raras. Agradeço também pela hospitalidade e ensinamentos que levarei para a vida.

Ao Dr. Aníbal Guillermo Armien (University of Minnessota – USA), pelo processamento e auxílio no estudo e descrição das lesões ultraestruturais. Que prontamente atendeu nosso pedido, destacando lembranças e experiências com os casos experimentais outrora realizados com o Dr. Carlos Tokarnia e Dr. Jürgen Döbereiner.

Ao Dr. Ricardo Antônio Amaral de Lemos e a Me. Rayane Chitolina Pupin da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS por compartilhar conosco um caso de sua rotina.

Ao Dr. Fernando Henrique Furlan da Universidade Federal do Mato Grosso - UFMT por nos ceder um caso de sua rotina e pela cortesia de sempre.

Ao Dr. José María Gutiérrez (Universidad de Costa Rica), uma autoridade mundial nesse tema, que gentilmente fez sugestões estruturais ao nosso trabalho.

Ao Dr. Sávio Stefanini Sant’Anna (Pesquisador Científico, Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan), que gentilmente nos cedeu excelentes imagens de exemplares de serpentes do gênero *Bothrops* do seu arquivo pessoal.

Agradeço pelo apoio técnico ao diagnóstico e interesse do Dr. Cláudio Severo Lombardo de Barros nos primeiros casos que recebemos.

Agradeço a Universidade de Brasília, em especial ao Laboratório de Patologia Veterinária onde tive a oportunidade de aprender muito com as pessoas e com a intensa rotina durante a residência e o mestrado. Também, ao Hospital Veterinário de Grandes Animais da Granja do Torto, na pessoa do Dr. Antônio Carlos Lopes Câmara, e aos médicos veterinários Gustavo Peixoto e Igor Louzada pela camaradagem, ajuda e auxílio clínico nos casos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais (Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - FAV) da Universidade de Brasília pela oportunidade, e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo fornecimento da bolsa.

“Phantasie ist wichtiger als wissen, denn wissen ist begrenzt”

Albert Einstein

BIOGRAFIA

Mizael Machado da Costa – nascido em 30 de maio de 1994, no município de Tupaciguara, estado de Minas Gerais. Técnico em Agropecuária pelo Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos (2011), onde foi aluno bolsista de iniciação científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), modalidade CNPq-Júnior. Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí (2017). Durante a graduação foi aluno bolsista e voluntário de iniciação científica do CNPq, e monitor da disciplina de Histologia Veterinária. Desde o terceiro período da graduação realizou estágio voluntário e remunerado no Laboratório de Patologia Veterinária, onde desenvolveu atividades na área de processamento histológico, realização de necropsia, e estudo de alterações macroscópicas, citológicas e histopatológicas. Realizou Residência Multiprofissional na área de Saúde/Medicina Veterinária no Programa de Anatomia Patológica Veterinária (2019) na Universidade de Brasília. Nesse período dedicou-se em particular, ao estudo, identificação e descrição de lesões causadas por doenças que acometem animais domésticos e silvestres. Cumpriu estágio opcional na residência (vivência) no Instituto Nacional de Investigación Agropecuária – INIA, Uruguai, nas estações de La Estanzuela e Tacuarembó, sob orientação do Dr. Franklin Riet-Correa. Ingressou no Mestrado em março de 2019, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais, com ênfase em Patologia Veterinária, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAV), da Universidade de Brasília.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xii
CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	2
1.1 Justificativa.....	3
1.2 Objetivos.....	3
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Características gerais sobre as serpentes e o gênero <i>Bothrops</i>	4
2.2 Importância dos acidentes ofídicos envolvendo os seres humanos.....	6
2.3 Aspectos do envenenamento natural por <i>Bothrops</i> spp. em animais de produção no Brasil.....	7
2.3.1. Achados clínicos.....	8
2.3.2 Achados de necropsia e histopatologia.....	8
2.4 Principais componentes do veneno botrópico e a fisiopatologia das alterações locais e sistêmicas.....	8
2.5 Alterações celulares ultraestruturais.....	10
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	10
CAPÍTULO II.....	16
1. INTRODUÇÃO.....	19
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3. RESULTADOS.....	20
4. DISCUSSÃO.....	22
5. CONCLUSÕES.....	26
Agradecimentos.....	26
6. REFERÊNCIAS.....	27
7. Anexo I.....	43

*O capítulo II encontra-se formatado segundo as normas de submissão da revista Toxicon.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Regiões onde ocorreram os cinco casos de envenenamento botrópico em equinos no Brasil. 37
- Figura 2 - Envenenamento botrópico. Equino 3, membro torácico direito. (A) Aumento de volume acentuado. (B) Hemorragia acentuada no tecido subcutâneo e muscular. 37
- Figura 3 - Envenenamento botrópico. Equino 4. (A) Cabeça. Inchaço acentuado. (B) Lábio. Marcas das presas (setas), perfurações paralelas espaçadas por 1,8 cm. 38
- Figura 4 - Envenenamento botrópico. Equino 4. Hemorragia acentuada na cabeça e pescoço. 38
- Figura 5 - Envenenamento botrópico. Equino 5. Rim. Nefrose tubular aguda caracterizada por estrias esbranquiçadas radialmente dispostas pelo cortex renal. Detalhe (*). 39
- Figura 6 - Envenenamento botrópico. Equino 4. Local da inoculação do veneno. (A) Músculo esquelético. Necrose muscular e hemorragia dissecante (H&E, barra=250µm). (B) Pele glabra. Dermonecrose hemorrágica difusa acentuada (H&E, barra=250µm). 39
- Figura 7 - Envenenamento botrópico. Equino 5. Rim. (A) Região medular. Necrose tubular aguda (*) e cilindros hialinos (cabeças de setas) (H&E, barra=50µm). (B) Córtex renal. Hemorragia glomerular acentuada e necrose tubular aguda (*) (H&E, barra=100µm). 40
- Figura 8 - Envenenamento botrópico. Equino 5. Rim. (A) Córtex renal. Trombose de capilares glomerulares (setas) (H&E, barra=25µm). (B) Região medular. Gotículas hialinas intracitoplasmáticas (*) em células epiteliais de túbulos contorcidos distais (Azul de anilina cromotrópico, barra=25µm). 40
- Figura 9 - Envenenamento botrópico. Equino 5. Rim. (A). Córtex renal. Necrose das células epiteliais tubulares (*) com marginação da cromatina nuclear, e lise de organelas (seta) e degeneração hidrópica. (MET, barra=10µm). (B) Mitocôndrias aumentadas de volume, com ruptura de cristas e formação de corpos eletrodensos (Microscopia Eletrônica de Transmissão, barra=1µm). 41
- Figura 10- Envenenamento botrópico. Equino 5. Rim. (A). Capilar com necrose das células epiteliais (*), trombose e ruptura da membrana basal, e hemorragia intersticial (estrela). Hemorragia intersticial (estrela) e degeneração hidrópica de células epiteliais tubulares (cruz). (Microscopia Eletrônica de Transmissão, barra=6µm). (B) Trombo de fibrina em capilar glomerular (*) e podócito com degeneração hidrópica e lise de organelas (MET, barra=1µm). 42

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Casos de envenenamento ofídico natural fatal em animais de produção no Brasil	7
--	---

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Características epidemiológicas do envenenamento botrópico fatal em equinos	33
Tabela 2 - Achados hematológicos e bioquímicos de envenenamento botrópico fatal em quatro equinos	34
Tabela 3 - Localização e intensidade de hemorragias no subcutâneo, músculo esquelético, cavidades e órgãos de equinos com envenenamento botrópico fatal	35
Tabela 4 - Localização e intensidade das alterações histopatológicas no rim de equinos com envenenamento botrópico fatal	36

RESUMO

ENVENENAMENTO BOTRÓPICO FATAL EM EQUINOS

Mizael Machado¹, Tais Meziara Wilson¹, Davi Emanuel Ribeiro de Sousa¹, Antônio Carlos Lopes Câmara¹, Fernando Henrique Furlan², Juliana Targino Silva Almeida e Macêdo¹, Rayane Chitolina Pupin³, Ricardo Antônio Amaral de Lemos³, Aníbal Guilherme Armién⁴, Severo Sales de Barros⁵, Franklin Riet-Correa⁶, Márcio Botelho de Castro¹

1 Laboratório de Patologia Veterinária, Hospital Veterinário, Via L4 Norte, sn/, Universidade de Brasília (UnB), Campus Universitário Darcy Ribeiro, 70636-200, Brasília, DF, Brazil. 2 Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Av. Fernando Corrêa da Costa 2367, Boa Esperança, Cuiabá, MT 78060-900, Brasil. 3 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av. Senador Felinto Muller, 2443, 79074-460, Campo Grande, MS, Brazil. 4 Minnesota Veterinary Diagnostic Laboratory, Department of Veterinary Population Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, MN 55108, St. Paul, USA. 5 Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Patologia, 97105900 – Santa Maria, RS – Brasil. 6 Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Estación Experimental INIA La Estanzuela, Ruta 50 Km 11, Colonia del Sacramento, Colonia, Uruguay.

A mortalidade decorrente do envenenamento por serpentes nos animais de fazenda tem sido superestimada em áreas rurais na América Latina. A maioria dos casos baseiam-se em hipóteses sem fundamentação técnica. São escassos os relatos de morte por envenenamento botrópico em equinos. Este estudo apresenta os achados epidemiológicos, clínicos e patológicos do envenenamento botrópico fatal em equinos na região Centro-Oeste do Brasil, com o objetivo de melhorar a fundamentação para o diagnóstico dessa condição. Foi realizado um estudo retrospectivo nos registros de necropsias nos Laboratórios de Patologia da Universidade de Brasília, Universidade Federal do Mato Grosso e Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, entre janeiro de 2010 a fevereiro de 2018. Foram identificados cinco casos envenenamento por *Bothrops* spp. em 755 protocolos de necropsias de equinos, correspondendo a 0,66% do total de casos e variando de 0,33% a 0,89%. Os principais achados de necropsia consistem em hemorragia e edema subcutâneo, com maior gravidade no sítio da inoculação, e a identificação das marcas das presas em dois casos. A principal alteração do envenenamento sistêmico são as hemorragias em diversos órgãos e tecidos. Também foram observadas necrose muscular, dermonecrose e degeneração e necrose moderada a acentuada no epitélio tubular renal. O envenenamento botrópico tem baixa ocorrência na região Centro-Oeste. O diagnóstico foi baseado nas alterações clínicas e achados de necropsia e histopatologia. Os achados

apresentados devem ser considerados para o estabelecimento do diagnóstico e da terapêutica a ser utilizada em casos de envenenamento.

Palavras-chave: *Bothrops* spp.; coagulopatia; equinos; lesão renal aguda; lesão endotelial.

ABSTRACT

Snake bite envenomations in farm animals are generally overestimated as the cause of mortality in rural areas in Latin America. Most cases are based only on anecdotal information and assumptions, and lack diagnostic evidence. There are few proven reports of envenomation and death in horses caused by snakebites from members of the *Bothrops* genus (lancehead pit vipers). This study presents epidemiological and clinical-pathological findings of fatal bothropic envenomation in horses from Central Western Brazil in order to contribute to the correct diagnosis of this condition. A survey of the records of equine necropsies from the Veterinary Pathology Laboratories of the University of Brasilia, Federal University of Mato Grosso and Federal University of Mato Grosso do Sul, from January 2010 to February 2018, was performed. Five fatal cases of bothropic snakebite were identified in 755 necropsies of horses, corresponding to 0.66% of these cases, ranging annually from 0.33% to 0.89%. The main necropsy findings were marked swelling and diffuse subcutaneous hemorrhage, and identification of the fang marks in 2 out of five horses. Hemorrhage in most organs and tissues was the pathological hallmark of systemic envenomation. Myonecrosis, dermonecrosis, and moderate to severe kidney degeneration and necrosis were also observed. Fatal *Bothrops* snakebites in horses have a low occurrence in Central Western Brazil and most cases occur in the rainy season. The diagnosis of this condition may be substantiated by clinical signs and pathological findings. Local hemorrhage and necrosis, systemic hemorrhagic disorders and injuries related to acute kidney injury are the predominant clinical signs. These findings should be considered in the diagnosis and therapeutic management of these envenomations.

Key words: AKI, coagulopathy, *Bothrops* spp., endothelial injury, horses, snakebite, snake.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

De acordo com Gutiérrez et al. 2017, no mundo mais de 400 000 pessoas por ano sofrem sequelas e mais de 100 000 pessoas morrem pelo envenenamento acidental por serpentes peçonhentas. Estima-se que anualmente na América Latina ocorram 150 000 mil casos de envenenamentos e 5 000 mortes. Essa condição é uma doença tropical e subtropical negligenciada e acomete principalmente populações rurais pobres. A família Viperidae e a Elapidae concentram as principais espécies de serpentes que causam mortes e sequelas em seres humanos (Gutiérrez et al. 2017). Os animais domésticos também são acometidos por acidentes ofídicos (Cheng et al. 2004, Fielding et al. 2011; Goddart et al. 2011; Machado et al. 2019).

Com um rebanho expressivo de 5,5 milhões de equinos distribuídos pelas regiões do Brasil, é importante conhecer as enfermidades e agentes responsáveis por causar impacto econômico na produção animal (IBGE 2017). Entre as principais causas de morte de equinos ou determinantes para eutanásia dos animais se destacam as doenças bacterianas, virais, parasitárias, fungicas, metabólicas e tóxicas (Pierezan et al. 2009; Marcolongo-Pereira et al. 2014).

Nas propriedades rurais é muito comum que a morte dos animais de fazenda seja atribuída às serpentes venenosas, em especial aos bovinos, embora esse diagnóstico presuntivo seja firmado sem exame clínico, necroscópico e/ou histológico. Segundo Tokarnia et al. (2006) acidentes ofídicos fatais são superestimados em bovinos. Não há informações dessa natureza para equinos.

Frente a necessidade em se conhecer o quadro clínico dessa condição nos animais de fazenda e com o objetivo de melhorar a fundamentação do diagnóstico anatomopatológico do envenenamento botrópico e crotálico, experimentos foram realizados em equinos (Sousa et al. 2011, Lopes et al. 2012), bovinos (Caldas et al. 2008, Graça et al. 2008), ovinos (Aragão et al. 2010), e bubalinos (Barbosa et al. 2011).

No Brasil, casos de envenenamentos naturais fatais comunicados concentram-se em ruminantes, em especial, em bovinos (Grunert 1967, Grunert & Grunert 1969, Menezes 1996) e ovinos (Méndez & Riet-Correa 1995, Tokarnia et al. 2008). Em relação aos equinos, são descritos apenas dois casos de envenenamento botrópico natural em diferentes regiões do país (Raposo et al. 2001, Silva et al. 2011). No Brasil, é importante destacar, que todos os relatos de envenenamento natural em diferentes espécies animais estão relacionadas ao quadro clínico-patológico associado ao veneno de serpentes do gênero *Bothrops*, e nenhum por *Crotalus*, *Micrurus* ou *Lachesis*.

1.1 Justificativa

No Brasil, especialmente nas áreas rurais casos de envenenamentos acidentais por serpentes são frequentemente relatados como causa de morte em animais de produção. No entanto, na maioria das vezes, essas informações carecem de comprovação científica e são baseadas apenas em relatos por leigos ou em credices. A análise epidemiológica, laboratorial, do quadro clínico-patológico e das alterações ultraestruturais provocadas pelo envenenamento botrópico natural fatal se faz necessária para subsidiar o diagnóstico dessa condição.

1.2 Objetivos

Este trabalho tem como objetivo geral contribuir para o diagnóstico clínico e *post mortem* de equinos envenenados por serpentes do gênero *Bothrops*. Como objetivos específicos, caracterizar os aspectos epidemiológicos, laboratoriais, clínico-patológicos e ultraestruturais de casos fatais em equinos a partir de um estudo retrospectivo (janeiro de 2010 a fevereiro de 2018) dos registros de necropsia dos Laboratórios de Patologia Veterinária da Universidade de Brasília, Universidade Federal do Mato Grosso e Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. E assim, determinar a ocorrência e verificar a importância dessa condição como causa morte de equinos no Centro-Oeste do Brasil.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características gerais sobre as serpentes e o gênero *Bothrops*

Pertencentes à classe dos répteis e a subordem serpentes as cobras são animais que desempenham um papel importante na natureza, como predadores e presas. Mundialmente são conhecidas 3496 espécies de serpentes (Uetz 2014), 386 ocorrem no Brasil (Bernarde 2014), e dessas, 62 são peçonhentas e com alto potencial para causar agravos aos seres humanos e animais. As principais espécies peçonhentas pertencem a família Elapidae (corais verdadeiros) e Viperidae (jararacas, cascavéis e surucucu-pico-de-jaca) (Bernarde 2014).

No Brasil a família Viperidae agrupa 30 espécies de serpentes. São em sua maioria vivíparas, com tamanho médio a grande, possuem fosseta loreal e dentição do tipo solenóglifa e cabeça triangular, hábitos terrestres ou arborícolas e comportamento predominantemente noturno. Alimentam-se preferencialmente de roedores, mas também de anfíbios, lagartos, pássaros, peixes e outras serpentes (Bernarde 2014). Em todas as regiões do país são encontrados exemplares da família Viperidae, que são responsáveis por cerca de 99% dos casos de envenenamento acidental em seres humanos (Bernarde 2014). O veneno possui toxinas que provocam efeito neurotóxico, distúrbios de coagulação e efeito citotóxico (Gutiérrez et al., 2017).

Serpentes botrópicas podem ser encontradas em toda a América Latina. No Brasil não é diferente, em todas as regiões podemos encontrar exemplares, e ainda várias espécies que coabitam a mesma localidade. A diversidade de espécies propicia a colonização de diferentes biomas, como a Mata Atlântica, Amazônia, Cerrado e Pantanal (Bernarde 2014).

As serpentes do gênero *Bothrops*, popularmente chamadas de jararacas (Figura 1), possuem em média de 1,2 a 1,6 m de comprimento, dois dentes inoculadores ocos e retrateis na região anterior da maxila (solenóglifas), coloração muito variável entre as espécies, as fêmeas são maiores que os machos, ocorrem em tanto em florestas como em regiões antropizadas (áreas de cultivo ou periurbanas) (Bernarde 2014).

Possuem maior atividade no período crepuscular e noturno, e comportamento diurno em espécimes jovens ou com o objetivo de manter a termorregulação. Nas estações mais quentes e úmidas estão ainda mais ativas, e podem ser encontradas no solo ou inseridas na vegetação (Sazima 1998; Bernarde 2014). De forma geral, quando se sentem ameaçadas podem optar por evadir rapidamente (fuga), manter-se imóveis, ou formar o enrodilhamento e desferir botes.



Figura 1. Espécies do gênero *Bothrops* de ocorrência no Centro-Oeste do Brasil. A: *Bothrops alternatus*. B: *Bothrops atrox*. C: *Bothrops jararaca*. D: *Bothrops jararacussu*. E: *Bothrops moojeni*. Fonte: Cortesia do Dr. Sávio Stefanini Sant'Anna (Pesquisador Científico, Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan). F: *Bothrops neuwied*. Fonte: Marcus Vinicius Lameiras.

Os nomes populares variam de acordo com as regiões e com a espécie da serpente. A *Bothrops jararaca* é popularmente chamada de jaracuçu, cabeça de patrona, malha de sapo e jaracuçu quatro-ventas, *B. alternatus* (urutu ou urutu cruzeira), *B. moojeni* (caiçaca, jararacão, e jararaquinha do rabo branco), e *B. atrox* (jararaca, jararacão, comboia e jaracuçu). Devido à grande variedade de espécies o termo jararaca predomina nas diferentes regiões como identificação para todas as serpentes botrópicas (Bernarde, 2014).

2.2 Importância dos acidentes ofídicos envolvendo os seres humanos

Considerada uma doença tropical negligenciada o envenenamento por ofídios em seres humanos é amplamente estudado por ser um problema de saúde pública de relevância mundial (World Health Organization, 2007). Estima-se que 1,8 a 2,7 milhões de pessoas anualmente no mundo sofram envenenamentos acidentais por serpentes (Gutiérrez et al., 2017). Inúmeros são os esforços e os recursos dispensados para estudos acerca da constituição do veneno das serpentes, elucidação da ação dessas toxinas em diferentes órgãos, na determinação da morbidade e mortalidade, qual população mais acometida, nas medidas terapêuticas mais eficientes para o tratamento e redução dos impactos (Gutiérrez et al., 2010; Gutiérrez et al., 2017).

Em estudo feito por Gutiérrez et al., 2017 estabeleceram regiões geográficas específicas e estimaram intervalos aproximados de casos de envenenamento e morte por acidente ofídico ocorridos anualmente. Concluíram que, na Ásia ocorrem entre 1,2 a 2 milhões de envenenamentos e 57 a 100 mil são casos fatais; na África 435 a 580 mil acidentes e de 20 a 32 mil mortes, na América Latina 137 a 150 mil casos e 3,400 a 5 mil óbitos, na Europa 8 a 9,9 mil acidentes ofídicos e 30 a 128 casos fatais, na América do Norte 3,800 a 6,500 casos com 7 a 15 mortes e na Oceania 3 a 5,9 mil agravos e 200 a 520 óbitos. As regiões subtropicais e tropicais da América Latina, Ásia, África subsaariana, Ásia, e Oceania apresentam a maior incidência dos acidentes ofídicos em humanos (Mohapatra et al., 2011; Chippaux 2011; Harrison et al., 2009).

Os agravos por serpentes representam uma doença ocupacional, onde indivíduos com idade entre 10 e 40 anos, de baixa renda e que trabalham em áreas rurais estão mais propensos a sofrer o envenenamento acidental (Alirol et al., 2010). A maior taxa de letalidade é observada em crianças com menos de 5 anos (Sankar et al., 2013). Além do alto potencial de letalidade do envenenamento, nos casos de evolução crônica do quadro, os pacientes desenvolvem sequelas muito graves, como amputações, contraturas com perda da mobilidade

do membro, cegueira, infecções locais ou sistêmicas, aborto e trauma psicológico (Warrer et al., 1976; Gutiérrez et al., 2006; Habib et al., 2008).

As famílias Elapidae e Viperidae são as principais serpentes associadas ao envenenamento em seres humanos no mundo. Na África, *Naja naja* e *Bungarus caeruleus* (Elapidae) e *Daboia russelii* (Viperidae), no oeste africano *Echis ocellatus* e *Bitis arietans* (Viperidae), e *Oxyuranus scutellatus* (Elapidae), na Ásia *Bothrops atrox*, e nas Américas, *Bothrops asper* (Viperidae) (Gutiérrez et al., 2017). Na América Central e do Sul, a família Viperidae inclui as principais serpentes envolvidas em casos de envenenamentos fatais, e por gerar sequelas graves em seres humanos (Sant'Ana et al., 2015).

A síndrome do envenenamento por Viperídeos, em particular o gênero *Bothrops*, implica em efeitos locais e sistêmicos. Localmente e em regiões adjacentes, desenvolve-se eritema, aumento de volume, dor intensa, hematomas, formação de bolhas, hemorragia, necrose e infecção secundária. A gravidade das lesões aumenta com a cronicidade do caso. Alterações sistêmicas cursam com hemorragias espontâneas por cavidades naturais e em diversos órgãos, hipotensão, choque, taquicardia, lesão endotelial e trombose vascular, necrose muscular e insuficiência renal aguda. Outros gêneros incluídos na família Viperidae, como *Crotalus*, promovem alterações predominantemente neuromotoras, como paralisia, paresia e fasciculações, e também rabdomiólise e insuficiência renal aguda (Warrel 2004; Gutiérrez et al., 2017).

2.3 Aspectos do envenenamento natural por *Bothrops* spp. em animais de produção no Brasil

No Brasil, há poucos casos relatados envolvendo animais de produção, todos relacionados a serpentes do gênero *Bothrops*, que estão compilados na Tabela 1.

Tabela 1: Casos de envenenamento ofídico natural fatal em animais de produção no Brasil

Espécie animal	Serpente	Cidade e/ou Estado	Referências
Bovino	<i>Bothrops</i>	Porto Alegre/RS	Grunert 1967/ Grunert & Grunert 1969
	<i>Bothrops</i>	Bahia	Menezes 1996
Equino	<i>Bothrops</i>	Pelotas/RS	Raposo et al., 2001
	<i>Bothrops</i>	Rio Grande do Sul	Pierezan et al., 2009
	<i>Bothrops</i>	Castanhal/PA	Silva et al., 2011
Ovino	<i>Bothrops</i>	Patos/PB	Tolentino et al., 2019
	<i>B. neuwied</i>	Rio Grande do Sul	Méndez & Riet-Correa 1995
	<i>B. jararaca</i>	Miguel Pereira/RJ	Tokarnia et al., 2008
	<i>Bothrops</i>	Santa Maria/RS	Leal et al., 2013

2.3.1. Achados clínicos

Em bovinos (Grunert 1967; Grunert & Grunert 1969; Menezes 1995), e equinos (Raposo et al., 2000; Silva et al., 2011; Tolentino et al., 2019) os sinais clínicos observados cursavam com aumento de volume no sítio da picada, distúrbios de coagulação, taquicardia, taquipneia e dor. Em ovinos, o principal sinal descrito foi o aumento de volume na cabeça ou no membro afetado (Méndez & Riet-Correa 1995; Tokarnia et al. 2008). Animais acometidos no membro apresentaram marcante aumento de volume e claudicação (Grunert 1967; Grunert & Grunert 1969; Silva et al., 2011). Alterações laboratoriais como a elevação dos níveis séricos de ureia, creatinina, e creatinina quinase, trombocitopenia, e aumento do tempo de coagulação foram observadas em um equino acometido (Tolentino et al., 2019). As marcas das presas da serpente foram encontradas por (Raposo et al., 2000; Tolentino et al., 2019).

2.3.2 Achados de necropsia e histopatologia

Os achados de necropsia relatados em bovinos foram hemorragia e edema no subcutâneo e na musculatura associados ao local da inoculação do veneno, além de hemorragia nas cavidades torácica e abdominal, e em diversos órgãos (Grunert 1967; Grunert & Grunert 1969; Menezes 1995). Segundo Tolentino et al., (2019) os achados de necropsia foram hemotórax, hemorragia dissecante no diafragma, trombose vascular pulmonar, áreas hemorrágicas no coração, estômago, intestino delgado e grosso, e fígado alaranjado. Lesões renais como hemorragia perirrenal (Silva et al., 2011), e estrias esbranquiçadas na região cortical do rim também foram descritas equinos por (Silva et al., 2011; Tolentino et al., 2019). A maioria dos relatos não descrevem achados de histopatologia, aqueles que o fizeram descreveram hemorragia e necrose muscular (Raposo et al., 2000; Tokarnia et al., 2008; Pierezan et al., 2009), e necrose de coagulação de túbulos renais, edema, congestão e hemorragias intersticiais (Raposo et al., 2000; Silva et al., 2011; Tolentino et al., 2019).

2.4 Principais componentes do veneno botrópico e a fisiopatologia das alterações locais e sistêmicas

O veneno é uma mistura variada de proteínas complexas produzidas por uma glândula especializada, e que atuam de forma individual ou integralizada quando inoculadas,

causando danos teciduais locais e sistêmicos, potencialmente letais a vítima. A inoculação pode ocorrer na região subcutânea ou intramuscular, parte do veneno inicia o desenvolvimento de lesões locais, e a outra parte é distribuída sistemicamente por vasos linfáticos e sanguíneos, o que permite a ação em múltiplos órgãos (Mora et al., 2008). A caracterização qualitativa e quantitativa das toxinas do veneno tem sido realizada em estudos baseados na avaliação proteômica e transcriptômica (Pereira et al., 2011; Gutiérrez et al., 2017). A fosfolipase A2, metaloproteínases (classe PIII e PI), hialuronidase, e serina protease são os principais constituintes envolvidos nas lesões locais e sistêmicas causadas pelo veneno botrópico (Gutiérrez & Lomonte 1995; Yamashita et al., 2014).

A fosfolipase A2 tem uma potente ação citotóxica, nos miócitos ela atua promovendo a hidrólise da membrana citoplasmática das células musculares, a perda de integridade da membrana gera o influxo de cálcio, que por sua vez provoca hipercontração da fibra e danos mitocôndrias irreversíveis (Gutiérrez & Ownby 2003). Outros efeitos da fosfolipase A2 incluem, necrose das células endoteliais de vasos linfáticos e sanguíneos, edema, nefrotoxicidade, e ação hemolítica. A ação das metaloproteínases no tecido é caracterizada por hidrólise do colágeno tipo IV presente na membrana basal dos vasos sanguíneos, o que pode resultar em hemorragias. De forma sinérgica metaloproteínases e hialuronidases potencializam as injúrias a parede dos vasos, suscitando alterações em outros constituintes estruturais (Gutiérrez et al., 2016). Um processo inflamatório é instalado no tecido afetado, há o recrutamento de leucócitos, e produção de histamina, bradicinina, óxido nítrico, eicosanoides e citocinas. O aumento da permeabilidade vascular com a formação de um exsudato e a ruptura de vasos danificados contribuem para o maior dano local (Rucavato et al., 2016). A ação das metaloproteínases, principalmente as da classe PIII, é local e sistêmica. Podem ocorrer hemorragias em múltiplos sistemas do organismo. Os distúrbios hemostáticos são agravados pela serino proteinases, que ativam a cascata de coagulação, através da ativação dos fatores V e X ou protrombina. Ativação da cascata de coagulação também ocorre pela liberação do fator tecidual devido a lesão endotelial dos vasos sanguíneos (Yamashita et al., 2014). Esses eventos induzem uma coagulopatia de consumo, que culminam na incoagulabilidade do sangue (White 2005). As desintegrinas, lectinas tipo C, serino proteinases, e metalaproteinases impedem a agregação plaquetária. A redução no número de plaquetas e a trombose são respostas as lesões vasculares causadas pelas metaloproteínases (Rucavato et al., 2005).

Outra manifestação apresentada em casos de envenenamento é a insuficiência renal aguda, a fisiopatologia do desenvolvimento desse quadro é multifatorial. Resulta do sinergismo entre a isquemia do órgão em decorrência da hipotensão secundária as hemorragias

sistêmicas. A hemólise microangiopática e a hemólise causada pela ação da fosfolipase A2 contribuem para o quadro de hipóxia. As metaloproteínases também causam injúrias nas células endoteliais do glomérulo, que por sua vez, podem desenvolver trombose (microangiopatia trombótica). A nefrose se dá pela ação direta da fosfolipase A2 nos túbulos renais, e pelo efeito tóxico da hemoglobinúria e mioglobulinúria (Pinho et al., 2005; Stiprija & Stiprija 2012; Gutiérrez et al., 2017).

2.5 Alterações celulares ultraestruturais

O uso da microscopia eletrônica de transmissão tem auxiliado no estudo aplicado das lesões celulares ultraestruturais decorrentes do envenenamento botrópico. Experimentalmente as lesões vasculares em estágio inicial são caracterizadas pela formação de projeções da membrana citoplasmática e descolamento da célula endotelial da membrana basal, e evoluem para degradação da membrana basal, tumefação com lise de organelas, e fragmentação das células endoteliais. Trombose vascular e ruptura com extravasamento de hemácias (hemorragia), degeneração e necrose das células epiteliais dos túbulos renais também são encontradas (Moreira et al. 1994; Boer-Lima et al., 2002). A necrose muscular é caracterizada pela ruptura da membrana plasmática, formação de agregados de miofilamentos, inchaço, ruptura das criptas e formações de corpos eletrodensos nas mitocôndrias, agregação da cromatina nuclear e formações de pequenas vesículas decorrentes da ruptura do retículo sarcoplasmático e hemorragia intersticial circundado essas células musculares necróticas (Gutiérrez et al., 1984).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIROL, E.; SHARMA, S. K.; BAWASKAR, H. S.; KUCH, U.; CHAPPUIS, F. Snake bite in South Asia: a review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 1, p. 1-10, 2010.

ARAGÃO, A.P.; TOKARNIA, C.H.; GRAÇA, F.A.S.; FRANÇA, T.N.; COELHO, C.D.; CALDAS, A.S.; PEIXOTO, P.V. Envenenamento experimental por *Bothropoides jararaca* e *Bothrops jararacussu* em ovinos: aspectos clínico-patológicos e laboratoriais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 9, 2010.

BARBOSA, J.D.; SOUSA, M.G.S.; TOKARNIA, C.H.; BRITO, M.F.; REIS, A.S.B.; BOMJARDIM, H.A.; LOPES, C.T.A.; OLIVEIRA, C.M.C. Quadro clínico-patológico do

envenenamento crotálico experimental em bubalinos comparado com o de bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 11, p. 967-973, 2011.

BERNARDE, P.S. **Serpentes peçonhentas e acidentes ofídicos no Brasil**. Ed. Anolis Books, 2014, 224p.

BOER-LIMA, P.A.; GONTIJO, J.A.; CRUZ-HÖFLING, M.A. *Bothrops moojeni* snake venom-induced renal glomeruli changes in rat. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 67, n. 2, p. 217-222, 2002.

CALDAS, S.A.; TOKARNIA, C.H.; FRANÇA, T.N.; BRITO, M.F.; GRAÇA, F.A.; COELHO, C.D.; PEIXOTO, P.V. Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais do envenenamento experimental por *Bothrops alternatus* em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 6, p. 303-312, 2008.

CHENG, A.C.; CURRIE, B.J. Venomous snakebites worldwide with a focus on the Australia-Pacific region: Current management and controversies. **Journal of Intensive Care Medicine**, v. 19, p. 59-69, 2004.

CHIPPAUX, J.P. Estimate of the burden of snakebites in sub-Saharan Africa: a meta-analytic approach. **Toxicon**, v. 57, n. 4, p. 586-589, 2011.

FIELDING, C.; PUSTERLA, N.; MAGDESIAN, G.; HIGGINS, J.C.; MEIER, C. Rattlesnake envenomation in horses: 58 cases (1992-2009). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 238, p. 631-635, 2011.

GODDARD, A.; SCHOEMAN, J. P.; LEISEWITZ, A. L.; NAGEL, S. S.; AROCH, I. Clinicopathologic abnormalities associated with snake envenomation in domestic animals. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 40, n. 3, p. 282-292, 2011.

GRAÇA, F.A.S.; PEIXOTO, P.V.; COELHO, C.D.; CALDAS, A.S.; TOKARNIA, C.H. Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais do envenenamento crotálico experimental em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 6, p. 261-270, 2008.

GRUNERT, E. Beobachtungen über Schlangenbissverletzungen bei grossen Haustieren in Süd-Brasilien. **Dtsch Tierärztl Wochenschr**, n. 20, p. 531-532, 1967.

GRUNERT, E., GRUNERT, D., Beobachtungen von *Bothrops*-Schlangenbissverletzungen bei Rind und Pferd in Rio Grande do Sul, Brasilien. **Veterinär-Medizinische Nachrichten**, v. 3, p. 217:232, 1969.

GUTIÉRREZ, J.; ESCALANTE, T.; RUCAVADO, A.; HERRERA, C.; FOX, J. A comprehensive view of the structural and functional alterations of extracellular matrix by snake venom metalloproteinases (SVMPs): novel perspectives on the pathophysiology of envenoming. **Toxins**, v. 8, n. 10, p. 1-21, 2016.

GUTIÉRREZ, J.M.; CALVETE, J.J.; HABIB, A.G.; HARRISON, R.A.; WILLIAMS, D. J.; WARRELL, D. A. Snakebite envenoming. **Nature Reviews Diseases. Primers**, v. 3, p. 1-21, 2017.

GUTIÉRREZ, J.M.; LOMONTE, B. Phospholipase A2 myotoxins from *Bothrops snake* venoms. **Toxicon**, v. 33, n. 11, p. 1405-1424, 1995.

GUTIÉRREZ, J.M.; OWNBY, C.L. Skeletal muscle degeneration induced by venom phospholipases A2: insights into the mechanisms of local and systemic myotoxicity. **Toxicon**, v. 42, n. 8, p. 915–931, 2003.

GUTIÉRREZ, J.M.; OWNBY, C.L.; ODELL, G.V. Pathogenesis of myonecrosis induced by crude venom and a myotoxin of *Bothrops asper*. **Experimental and Molecular Pathology**. v. 40, p. 367-379, 1984.

HABIB, A. G.; ABUBAKAR, S.B.; ABUBAKAR, I.S.; LARNYANG, S.; DURFA, N.; NASIDI, A.; YUSUF, P.O.; GARNVWA, J.; THEAKSTON, R.D.G.; SALAKO, L.; WARRELL, D.A. Envenoming after carpet viper (*Echis ocellatus*) bite during pregnancy: timely use of effective antivenom improves maternal and foetal outcomes. **Tropical Medicine and International Health**, v. 13, n. 9, p. 1172–1175, 2008.

HARRISON, R.A.; HARGREAVES, A.; WAGSTAFF, S.C.; FARAGHER, B.; LALLO, D.G. Snake envenoming: a disease of poverty. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 2. p. 1-7, 2009.

IBGE. [2017]. **Produção pecuária**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/df/pesquisa/18/16459>>. Acesso em: 29/04/2019.

LEAL, M.L.R.; AIRES, A.M.C.; FILLAPI, A.; TROST, M.E. Clinical and pathological observations associated with snake envenomation in two sheep. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 41, p. 1-5, 2013.

LOPES, C.T.A.; TOKARNIA, C.H.; BRITO, M.F.; SOUSA, M.G.; OLIVEIRA, C.M.C.; SILVA, N.S.; LIMA, D.H.S.; BARBOSA, J.D. Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais do envenenamento crotálico experimental em equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 9, p. 843-849, 2012.

MARCOLONGO-PEREIRA, C.; SILVA, P.E.; SOARES, M.P.; SALLIS, E.S.V.; GRECCO, F.; FERNANDES, C.G.; SCHILD, A.L. Doenças de equinos na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 34, n. 3, p. 205-210, 2014.

MENDEZ, M.C.; RIET-CORREA, F. Snakebite in sheep. **Veterinary Human Toxicology**, v. 37, n. 1, p. 62-63, 1995.

MOHAPATRA, B.; WARREL, D.A.; SURAWEEERA, W.; BATHIA, P.; DHINGRA, N.; JOTKAR, R.M.; RODRIGUEZ, P.S.; MISHRA, K.; WHITAKER, R.; JHA, P. Snakebite mortality in India: a nationally representative mortality survey. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 4. p. 1-9, 2011.

MORA, J.; MORA, R.; LOMONTE, B.; GUTIÉRREZ, J. M. Effects of *Bothrops asper* snake venom on lymphatic vessels: insights into a hidden aspect of envenomation. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, n. 10, p. 1-10, 2008.

PIEREZAN, F.; RISSI, D.R.; RECH, R.R.; FIGHERA, R.A.; BRUM, J.S.; BARROS, C.S.L. Achados de necropsia relacionados com a morte de 335 equinos: 1968-2007. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 3, p.275-280, 2009.

PINHO, F.M.O.; ZANETTA, D.M.T.; BURDMANN, E. A. Acute renal failure after *Crotalus durissus* snakebite: a prospective survey on 100 patients. **Kidney International**, v. 67, n. 2, p. 659–667, 2005.

RAPOSO, J.B.; MÉNDEZ, M.C.; BAILARDI, C.E.G.; RAFFI, M.B. A case of snakebite in a horse in southern Brazil - case report. **Revta FZVA**, v. 8, p. 51-57, 2001.

RUCAVADO, A.; NICOLAU, C.A.; ESCALANTE, T.; KIM, J.; HERRERA, C.; GUTIÉRREZ, J.M.; FOX, J.W. Viperid envenomation wound exudate contributes to increased vascular permeability via a DAMPs/TLR-4 mediated pathway. **Toxins**, v. 8, n. 12, p. 1-14, 2016.

RUCAVADO, A.; SOTO, M.; ESCALANTE, T.; LORÍA, G. D.; ARNI, R.; GUTIÉRREZ, J. M. Thrombocytopenia and platelet hypoaggregation induced by *Bothrops asper* snake venom: toxins involved and their contribution to metalloproteinase-induced pulmonary hemorrhage. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 94, n. 1, p. 123-131, 2005.

SANKAR, J.; NABEEL, R.; SANKAR, M. J.; PRIYAMBADA, L.; MAHADEVAN, S. Factors affecting outcome in children with snake envenomation: a prospective observational study. **Archive of Diseases Childhood**, v. 98, n. 8, p. 596–601, 2013.

SANT'ANA, C.M.S.; GUTIÉRREZ, J.M. Snakebite envenomation in Central and South America. **Critical Care Toxicology**, p. 1-22, 2015.

SAZIMA, I. Um estudo de biologia comportamental da jararaca, *Bothrops jararaca* com uso de marcas naturais. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 50, n. 3, p.83-99, 1998.

SILVA, N.S.; SILVEIRA, J.A.S.; ALBERNAZ, T.T.; CAMPOS, K.F.; OLIVEIRA, C.M.C.; FREITAS, N.F.Q.R.; BOMJARDIM, H.A.; BARBOSA, J.D. 2011. Fatal bothropic snakebite in a horse: a case report. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 17, n. 4, p. 496-500, 2011.

SITPRIJA, V.; SITPRIJA, S. Renal effects and injury induced by animal toxins. *Toxicon*, v. 60, n. 5, p. 943–953, 2012.

SOUSA, M.G.; TOKARNIA, C.H.; BRITO, M.F.; REIS, A.B.; OLIVEIRA, C.M.; FREITAS, N.F.; OLIVEIRA, C.H.; BARBOSA, J.D. Aspectos clínico-patológicos do envenenamento botrópico experimental em equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 9, p. 773-780, 2011.

TOKARNIA, C.H.; BRITO, M.F.; MALAFAIA, P.; PEIXOTO, P. V. Acidente ofídico em ovinos causado por *Bothrops jararaca*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 12, p. 643-648, 2008.

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

TOLENTINO, L.H.O.; TOLENTINO, M.L.D.L.; ASSIS, D.M.; FIRMINO, M.O.; BEVENUTTI, M.E.M.; MIRANDA-NETO, E.G.; DANTAS, A.F.M.; VAZ, A.F.M. Caracterização clínica, laboratorial e patológica de equino naturalmente acometido por acidente botrópico. **PUBVET**, v. 13, n. 4, p. 1-8, 2019.

UETZ, P. [2014]. **The Reptile Database**. Disponível em: <<http://www.reptile-database.org/>> Acesso em: 30/04/2019.

WARRELL, D.A.; ORMEROD, L.D. Snake venom ophthalmia and blindness caused by the spitting cobra (*Naja nigricollis*) in Nigeria. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 25, n. 3, p. 525–529, 1976.

WHITE, J. Snake venoms and coagulopathy. **Toxicon**, v. 45, n. 8, p. 951–967, 2005.

World Health Organization. [2007]. **Rabies and Envenomings. A Neglected Public Health Issue**. World Health Organization, Geneva. Disponível em: <https://www.who.int/bloodproducts/snake_antivenoms/rabies_envenomings/en/> Acesso em: 30/04/2019.

YAMASHITA, K.M.; ALVES, A.F.; BARBARO, K.C.; SANTORO, M.L. *Bothrops jararaca* Venom Metalloproteinases Are Essential for Coagulopathy and Increase Plasma Tissue Factor Levels during Envenomation. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 5, 2008.

CAPÍTULO II

Artigo aceito para publicação na revista Toxicon

RESUMO

ENVENENAMENTO BOTRÓPICO FATAL EM EQUINOS

Mizael Machado¹, Tais Meziara Wilson¹, Davi Emanuel Ribeiro de Sousa¹, Antônio Carlos Lopes Câmara¹, Fernando Henrique Furlan², Juliana Targino Silva Almeida e Macêdo¹, Rayane Chitolina Pupin³, Ricardo Antônio Amaral de Lemos³, Aníbal Guilherme Armién⁴, Severo Sales de Barros⁵, Franklin Riet-Correa⁶, Márcio Botelho de Castro¹

1 Laboratório de Patologia Veterinária, Hospital Veterinário, Via L4 Norte, sn/, Universidade de Brasília (UnB), Campus Universitário Darcy Ribeiro, 70636-200, Brasília, DF, Brazil. 2 Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Av. Fernando Corrêa da Costa 2367, Boa Esperança, Cuiabá, MT 78060-900, Brasil. 3 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av. Senador Felinto Muller, 2443, 79074-460, Campo Grande, MS, Brazil. 4 Minnesota Veterinary Diagnostic Laboratory, Department of Veterinary Population Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, MN 55108, St. Paul, USA. 5 Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Patologia, 97105900 – Santa Maria, RS – Brasil. 6 Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Estación Experimental INIA La Estanzuela, Ruta 50 Km 11, Colonia del Sacramento, Colonia, Uruguay.

A mortalidade decorrente do envenenamento por serpentes nos animais de fazenda tem sido superestimada em áreas rurais na América Latina. A maioria dos casos baseiam-se em hipóteses sem fundamentação técnica. São escassos os relatos de morte por envenenamento botrópico em equinos. Este estudo apresenta os achados epidemiológicos, clínicos e patológicos do envenenamento botrópico fatal em equinos na região Centro-Oeste do Brasil, com o objetivo de melhorar a fundamentação para o diagnóstico dessa condição. Foi realizado um estudo retrospectivo nos registros de necropsias nos Laboratórios de Patologia da Universidade de Brasília, Universidade Federal do Mato Grosso e Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, entre janeiro de 2010 a fevereiro de 2018. Foram identificados cinco casos envenenamento por *Bothrops* spp. em 755 protocolos de necropsias de equinos, correspondendo a 0,66% do total de casos e variando de 0,33% a 0,89%. Os principais achados de necropsia consistem em hemorragia e edema subcutâneo, com maior gravidade no sítio da inoculação, e a identificação das marcas das presas em dois casos. A principal alteração do envenenamento sistêmico são as hemorragias em diversos órgãos e tecidos. Também foram observadas necrose muscular, dermonecrose e degeneração e necrose moderada a acentuada no epitélio tubular renal. O envenenamento botrópico tem baixa ocorrência na região Centro-Oeste. O diagnóstico foi baseado nas alterações clínicas e achados de necropsia e histopatologia. Os achados apresentados devem ser considerados para o estabelecimento do diagnóstico e da terapêutica a ser utilizada em casos de envenenamento.

Palavras-chave: *Bothrops* spp.; coagulopatia; equinos; lesão renal aguda; lesão endotelial.

ABSTRACT

Snake bite envenomations in farm animals are generally overestimated as the cause of mortality in rural areas in Latin America. Most cases are based only on anecdotal information and assumptions, and lack diagnostic evidence. There are few proven reports of envenomation and death in horses caused by snakebites from members of the *Bothrops* genus (lancehead pit vipers). This study presents epidemiological and clinical-pathological findings of fatal bothropic envenomation in horses from Central Western Brazil in order to contribute to the correct diagnosis of this condition. A survey of the records of equine necropsies from the Veterinary Pathology Laboratories of the University of Brasilia, Federal University of Mato Grosso and Federal University of Mato Grosso do Sul, from January 2010 to February 2018, was performed. Five fatal cases of bothropic snakebite were identified in 755 necropsies of horses, corresponding to 0.66% of these cases, ranging annually from 0.33% to 0.89%. The main necropsy findings were marked swelling and diffuse subcutaneous hemorrhage, and identification of the fang marks in 2 out of five horses. Hemorrhage in most organs and tissues was the pathological hallmark of systemic envenomation. Myonecrosis, dermonecrosis, and moderate to severe kidney degeneration and necrosis were also observed. Fatal *Bothrops* snakebites in horses have a low occurrence in Central Western Brazil and most cases occur in the rainy season. The diagnosis of this condition may be substantiated by clinical signs and pathological findings. Local hemorrhage and necrosis, systemic hemorrhagic disorders and injuries related to acute kidney injury are the predominant clinical signs. These findings should be considered in the diagnosis and therapeutic management of these envenomations.

Key words: AKI, coagulopathy, *Bothrops* spp., endothelial injury, horses, snakebite, snake.

1. INTRODUÇÃO

O envenenamento por serpentes é uma importante causa de mortalidade e morbidade em seres humanos e animais em todo o mundo (Cheng & Currie, 2004; Gutiérrez et al., 2009; Fielding et al., 2011; Gutiérrez et al., 2017; Machado et al., 2019). *Bothrops*, *Crotalus* e *Lachesis* (família Viperidae) e *Micrurus* (família Elapidae) são os principais gêneros envolvidos em envenenamentos na América Latina (Franco et al., 2001; Malaque & Gutiérrez, 2015). No Brasil, o gênero *Bothrops* é responsável por mais de 80% dos envenenamentos e o gênero *Crotalus* 10% (Franco et al., 2001). Em animais domésticos o envenenamento botrópico representa a maioria dos casos, e uma minoria é crotálico. Não foram relatados casos de envenenamento por *Lachesis* ou *Micrurus* em animais domésticos no Brasil (Ferreira Júnior & Barravieira 2004; Tokarnia & Peixoto 2006; Chiacchio et al., 2011). Segundo Tokarnia et al., (2006) a mortalidade de animais de produção em decorrência do envenenamento por serpentes é sendo superestimado, e na maioria das vezes é baseado em suposições e credices.

No Brasil, envenenamentos foram relatados em bovinos (Grunert, 1967; Grunert & Grunert, 1969), ovinos (Mendez & Riet-Correa, 1995; Tokarnia et al., 2008; Leal et al., 2013), e equinos (Raposo et al., 2001; Chiacchio et al., 2011; Silva et al., 2011; Tolentino et al., 2019). Estudos experimentais foram realizados para caracterização do quadro clínico-patológico em equinos (Sousa et al., 2011; Lopes et al., 2012), bovinos (Caldas et al., 2008; Graça et al., 2008), ovinos (Aragão et al., 2010), e búfalos (Barbosa et al., 2011).

Dados sobre casos naturais de envenenamento botrópico em equinos são escassos. Assim, o presente trabalho tem como objetivo descrever os achados epidemiológicos, clínico-patológicos e ultraestruturais do envenenamento fatal em cinco equinos ocorridos na região Centro-Oeste.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo nos registros de necropsia de equinos, entre janeiro de 2010 a fevereiro de 2018, nos Laboratórios de Patologia da Universidade de Brasília, Universidade de Mato Grosso, e Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Os casos de envenenamento botrópico fatal foram selecionados com base nos critérios descritos por Malaque & Gutiérrez (2015), que considera o histórico, alterações locais (aumento de volume, hemorragia e edema) e alterações sistêmicas (choque circulatório, alterações na coagulação, e lesão renal). Foram analisados os achados epidemiológicos, clínicos,

laboratoriais, alterações de necropsia e histopatologia de equinos com diagnóstico de envenenamento botrópico fatal.

Quatro equinos (4/5) foram submetidos a avaliação clínica e todos foram necropsiados. As alterações morfológicas, distribuição e intensidade das lesões nos tecidos foram obtidas durante o exame macroscópico. Foram coletados fragmentos de diversos órgãos, fixados em formol a 10% tamponado (pH 7,0), embebidos em parafina, cortados a 4 µm, e corados com hematoxilina e eosina (H&E). Adicionalmente secções de tecido renal foram corados com azul de anilina cromotrópico para evidenciação de gotículas hialinas intracitoplasmáticas em células epiteliais tubulares (De Rijk et al., 2003). Foram sumarizadas as alterações renais histológicas quanto a identificação, localização, distribuição e intensidade. O mapa com a localização dos laboratórios de patologia em que o estudo foi realizado foi feito utilizando-se o programa Quantum Gis 2.14® (Fig. 1).

Foi realizada Microscopia Eletrônica (ME) do rim do equino 5. A amostra foi desidratada em soluções de álcool etílico (25% a 100%). Foi embebido em Embed 812 resin (Electron 88 Microscopy Sciences, Hatfield, PA, USA). O tecido então foi seccionado em ultramicrótomo Leica UC6 (Leica Microsystems, Viena, Áustria). Secções foram coradas com azul de toluidina e examinados em microscópio óptico para seleção da área de interesse. Foram realizadas secções de 60-70 nm e coletadas em uma grade de níquel 200-mesh (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA, USA). As secções finas na grade foram contrastadas usando citrato de uranila a 5% e chumbo. Estas preparações foram visualizadas usando um microscópio eletrônico de transmissão JEOL 1400 (JEOL LTD, Tóquio, Japão). As imagens foram obtidas usando uma câmera e um software AMT Capture Engine Versão 7.00 (Advanced Microscopy Techniques Corp. Woburn, MA, EUA). A análise de imagens foi realizada usando o ImageJ (domínio público NIHR).

3. RESULTADOS

A ocorrência de envenenamento por *Bothrops* foi de 0,89% (3/337), 0,33% (1/303), e 0,87% (1/115), dos casos de necropsia no LPV da UnB, UFMT e UFMS respectivamente, e 0,66% (5/755) nos 8 anos considerados nesse estudo. Informações gerais sobre o envenenamento dos cinco equinos estão resumidos na Tabela 1.

Os equinos 2, 3, 4 e 5 foram avaliados clinicamente e apresentaram congestão da mucosa ocular e oral, apatia, taquipneia (30-60 movimentos/min; valor de referência [VR]: 8-16 movimentos/min), taquicardia (50-100 batimentos/min; VR: 28-40 batimentos/min),

hemoptise e epistaxe. Todos os sítios de injeção muscular e venipunções sangravam continuamente. Três animais (equinos 2, 4 e 5), demonstraram marcado aumento de volume da cabeça, focinho e lábios. Os equinos 2 e 3 apresentaram urina marrom escura (hemoglobinúria/mioglobinúria), o equino 5 apresentou anúria e icterícia. Todos os animais evoluíram para a morte entre 12 a 48 horas.

Informações sobre os exames laboratoriais estão resumidos na Tabela 2. As alterações mais relevantes foram: hipoproteinemia (equinos 2 e 4), trombocitopenia (equinos 2, 3 e 5), aumento dos níveis séricos de CK (equino 2 e 4), ureia (2, 4 e 5), e creatinina (equinos 2, 3, 4 e 5). Os equinos 4 e 5 apresentaram hemólise acentuada o que impossibilitou a determinação dos parâmetros hematológicos. Leucocitose e anemia normocítica normocrômica foram observadas nos equinos 2 e 3.

As principais alterações macroscópicas observadas foram inchaço acentuado no sítio de inoculação do veneno e extensa hemorragia no subcutâneo e musculatura esquelética, no membro torácico (Fig. 2A e 2B), e na cabeça (Fig. 3A e 4). As marcas das presas (Fig. 3B), foram indentificadas nos equinos 4 e 5, caracterizadas por perfurações paralelas e circulares e na pele, espaçadas por 1,8-2,0 cm. Petéquias, equimoses e sufusões foram observadas no subcutâneo, musculo esquelético, e nos órgãos da cavidade abdominal e torácica (Tabela 3). O equino 5 apresentou lesão renal acentuada caracterizada por áreas de hemorragia aleatórias difusas pela superfície externa, e ao corte, estriações esbranquiçadas radialmente dispostas na região cortical (Fig. 5).

Histologicamente, hemorragias leves a moderadas foram observadas na maioria dos órgãos. Na região da inoculação havia dermonecrose hemorrágica (Fig. 6B), necrose fibrinóide de vasos sanguíneos e linfáticos, e degeneração e necrose muscular caracterizadas por retração, hialinização e perda de estriações foram observadas em associação a hemorragia dissecante. Hemorragia subcapsular e dos seios linfáticos foram observados nos linfonodos drenantes do sítio de inoculação. Os pulmões apresentaram congestão acentuada e hemorragias multifocais.

As principais lesões histológicas renais (Tabela 4) foram degeneração e necrose tubular aguda multifocal leve a acentuada, hemorragia intersticial e do espaço urinário multifocal acentuado (Fig. 7B), marcada trombose de capilares glomerulares (Fig. 8A), além de cilindros hialino e granuloso (Fig. 7A), e quantidades variáveis de gotículas hialinas intracitoplasmáticas em tubulos contorcidos distais (Fig. 8B).

A Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) do tecido renal do equino 5, evidenciou necrose tubular difusa, degeneração hidrópica das células epiteliais dos túbulos

renais, com lise das organelas e da cromatina nuclear, edema e hemorragia intersticial tubular difusa (Fig. 9A). Por vezes, as células epiteliais dos túbulos renais apresentam inchaço, desorganização, ruptura das cristas e corpos eletrodensos nas mitocôndrias (Fig. 9B). Em capilares glomerulares foram vistas células endoteliais necróticas (Fig. 10 B), associadas a trombose vascular (Fig. 10B).

4. DISCUSSÃO

Informações sobre as alterações patológicas decorrentes do envenenamento natural por serpentes do gênero *Bothrops* são escassas na literatura. No Brasil, o envenenamento botrópico de animais produção tem sido relatado na região Sul (Mendez & Riet-Correa, 1995; Raposo et al., 2001; Leal et al., 2013), Sudeste (Tokarnia et al., 2008; Chiacchio et al., 2011), Norte (Silva et al., 2011), e Nordeste (Tolentino et al., 2019). No presente estudo reportamos cinco casos de envenenamento fatal por *Bothrops* spp em equinos nas regiões de abrangência dos Laboratórios de Patologia da UnB, UFMT e UFMS, região Centro-Oeste do Brasil.

Embora a identificação das espécies de serpentes envolvidas nos casos de envenenamento nos equinos não tenha sido realizada, as manifestações clínicas e patológicas são compatíveis com aquelas induzidas por *Bothrops* spp. Nossos achados sugerem que a ocorrência de envenenamento botrópico em equinos é baixa no Centro-Oeste do Brasil. No entanto, o número total de casos pode ser maior se considerarmos a possibilidade de casos de envenenamentos que se recuperaram clinicamente ou a subnotificação dos casos.

Acredita-se que casos fatais em animais de grande porte são menos prováveis devido a relação dose e peso (Tokarnia & Peixoto 2006). Geralmente, as serpentes usam o veneno para imobilizar suas presas para obtenção de alimento, e são capazes de modular e reduzir a quantidade de veneno injetado em um animal de grande porte que não é potencialmente uma presa (Melgarejo, 2003). No entanto, esse estudo descreve casos fatais em equinos de até 500 Kg. Diferenças na suscetibilidade dos animais, variações de toxicidade influenciadas pelas condições ambientais e alimentação das serpentes, e a quantidade do veneno injetado possivelmente influenciaram o número de cavalos que morreram na região durante todo o período avaliado.

A maioria dos casos aconteceram na estação chuvosa (4/5), exceto um caso (equino 2) ocorrido no período de seca (1/5). O envenenamento por serpentes na América Latina tem caráter sazonal, com maior ocorrência no período chuvoso e quente (Radostits et al., 2007; Sazima, 2008). As espécies do gênero *Bothrops* tem menor atividade no período seco, e maior

atividade em período chuvoso, quente, e com alta umidade e maior disponibilidade de alimento, esse período coincide com a maior frequência de envenenamentos (Sazima, 2008; Cruz et al., 2009).

As principais lesões locais decorrentes do envenenamento botrópico são hemorragia e edema acentuado, geralmente na cabeça (focinho e lábios) ou nos membros (Raposo et al., 2001; Chiacchio et al., 2011; Silva et al., 2011). Equinos experimentalmente envenenados por *B. jararaca*, *B. jararacussu*, *B. moojeni* e *B. neuwiedi* também demonstraram aumento de volume acentuado no local da inoculação do veneno (Sousa et al., 2011). Esse achado é muito semelhante aos observados nesse estudo. Os animais apresentaram extensa hemorragia no sítio da inoculação e áreas adjacentes (pescoço e membros). Todos os equinos apresentaram hemorragias leves no tecido subcutâneo, muscular, e nos órgãos das cavidades torácica e abdominal.

O envenenamento por *Bothrops* resulta em alterações locais (hemorragia, mionecrose e dermonecrose), e manifestações sistêmicas (hemorragia sistêmica, coagulopatia, choque circulatório e insuficiência renal aguda), devido a ação de metaloproteínases, fosfolipase A2 e serinoproteases, principais componentes do veneno (Gutiérrez et al., 2017). A fosfolipase A2 apresenta potente ação miotóxica e causa mionecrose aguda, por afetar a integridade do sarcolema das células musculares esqueléticas (Gutiérrez et al., 2009). Esse mecanismo explica as extensas áreas de necrose muscular observada nos equinos, e o aumento da atividade sérica de CK (equinos 2 e 4).

Em humanos o envenenamento pela maioria das serpentes da família Viperidae suscita reação local acentuada, como hemorragia, edema e formação de bolhas, a progressão da lesão provoca graves sequelas no membro afetado (Gutiérrez et al., 2006). A formação de bolhas ocorre pela ação das metaloproteínases que causam a perda da integridade dermo-epidérmica (Gutiérrez et al., 2017). Não observamos alterações características clínicas ou histológicas dessa lesão nos equinos.

É possível que a intensidade das lesões cutâneas em equinos tenha sido menos severa que em humanos, devido ao curso clínico fatal agudo (12 a 48 horas), não evoluindo para lesões locais mais acentuadas. A avaliação de novos casos naturais de envenenamento em equinos com um curso clínico mais prolongado pode permitir futuras comparações com essas lesões em humanos. A identificação das marcas das presas (1,8 cm a 2,0 cm) confirmou o local da mordida da serpente. As marcas das presas foram previamente descritas em ovinos com envenenamento por *Bothrops* (Leal et al., 2013), e também auxiliaram no diagnóstico em dois equinos (equinos 4 e 5). As marcas das presas podem não ser encontradas, elas foram

observadas em apenas 25% dos casos de ovinos afetados (Tokarnia et al., 2008). De dois relatos em equinos, apenas um tinha presença das marcas das presas (Raposo et al., 2001; Silva et al., 2011). Em três equinos deste estudo (equinos 1, 2, e 3) elas também não foram encontradas, no entanto as manifestações locais e sistêmicas características do envenenamento botrópico sustentam o diagnóstico.

Insuficiência renal aguda (IRA) é uma das principais manifestações decorrentes do envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops*. A IRA está associada à ação direta dos componentes do veneno nos glomérulos e túbulos renais, somados ao efeito tubulotóxico da hemoglobina e mioglobina, e hipóxia decorrente do choque circulatório (Gutiérrez et al., 2017). O envenenamento experimental de camundongos por *Bothrops alternatus* revelou a deposição do veneno nos glomérulos e túbulos renais, que estava associado à degeneração, descamação e necrose das células tubulares renais (Gay et al., 2009; Mello et al., 2010).

A lesão renal pode ser agravada indiretamente pela liberação de mediadores endógenos, como citocinas, peptídeos inflamatórios, óxido nítrico e metabólitos do ácido araquidônico (Barbosa et al., 2006). A ação nefrotóxica do veneno botrópico pode justificar o aumento dos níveis séricos de uréia e creatinina observados nos quatro equinos avaliados. As alterações histológicas renais observadas nos equinos variaram de moderadas a acentuadas e são características de envenenamentos sistêmicos por serpentes da família Viperidae, como as *Bothrops* spp., que apresentam maior concentração de toxinas no veneno que causam citotoxicidade, hemorragia, coagulopatia e mionecrose (Gutiérrez et al., 2017).

As lesões ultraestruturais observadas nas células epiteliais tubulares do rim e suas organelas em nosso estudo são similares àquelas relatadas em ratos experimentalmente envenenados com veneno botrópico (Boer-Lima et al., 2002). Trombose vascular e necrose de células endoteliais dos capilares glomerulares observadas nos equinos também ocorreram em ratos experimentalmente envenenados por *Bothrops asper* (Moreira et al., 1994). A trombose está associada à resposta hemostática ao dano vascular primário comumente observado nesses envenenamentos (Moreira et al., 1994).

Os achados histológicos e ultraestruturais encontrados nesse estudo reforçam a importância da ação nefrotóxica do veneno botrópico e seu envolvimento na IRA. As metaloproteinases são os principais componentes do veneno das serpentes da família Viperidae envolvidas na hemorragia local e sistêmica devido à ação hidrolítica direta na membrana basal capilar, causando perda da estabilidade hemodinâmica, áreas de fragilidade e distensão da parede dos capilares, necrose e ruptura, com consequente hemorragia (Gutiérrez et al., 2005). As metaloproteinases da classe PIII são as toxinas hemorrágicas mais potentes nesses venenos

(Escalante et al., 2011; Herrera et al., 2015).

Hemorragia em diversos órgãos e tecidos foi o principal achado patológico nos equinos envenenados no Centro-Oeste do Brasil. Além disso, três equinos avaliados clinicamente apresentavam distúrbios de coagulação (equinos 2, 4 e 5), caracterizados por grave trombocitopenia em dois casos (equinos 2 e 5). A lesão endotelial detectada também pode agravar a coagulopatia e a hemorragia disseminada nesses equinos.

A ação das enzimas do veneno na cascata de coagulação, principalmente serinoproteínases e metaloproteínases pró-coagulantes, são responsáveis pela coagulopatia de consumo característica desses envenenamentos, com alteração dos testes laboratoriais de coagulação (Varanda & Giannini, 1999; White, 2005 Sousa et al., 2013), como observado em animais experimentalmente envenenados por venenos de diferentes espécies botrópicas (Sousa et al., 2013). Tais alterações na hemostasia associadas com a ação destrutiva das metaloproteínases hemorrágicas no sistema vascular, resultam em hemorragias locais e sistêmicas, um achado frequente em nosso estudo. A capacidade do veneno botrópico em provocar casos de envenenamentos letais ocorre provavelmente devido a alterações cardiovasculares associadas a hemorragia sistêmica, choque circulatório, e lesão renal aguda.

No Brasil as espécies mais comumente relacionadas a casos de envenenamento em seres humanos são as *Bothrops alternatus*, *B. atrox*, *B. jararacussu*, *B. jararaca*, *B. moojeni*, *B. neuwiedi*, *Crotalus durissus* e *Lachesis muta rhombeata* (Barraviera e Pereira, 1999; Melgarejo 2003). O veneno laquéico produz manifestações neurológicas, não observadas nos equinos desse estudo (Malaque & Gutiérrez, 2015). Serpentes do gênero *Lachesis* são encontradas em florestas tropicais como Amazônia e Mata Atlântica (Fernandes et al., 2004) e não ocorre nas áreas de cerrado onde foi feito este estudo. A distribuição espacial de *B. moojeni* e *B. neuwiedi* em vastas áreas de cerrado no Brasil sugere seu possível envolvimento nos casos relatados (Tokarnia & Peixoto 2006).

No entanto, nenhuma das serpentes foram capturadas e identificadas, e as espécies exatas responsáveis pelos nossos casos de envenenamento permanecem desconhecidas. A identificação das espécies das serpentes causadoras do envenenamento só é possível na minoria dos casos (Tokarnia & Peixoto 2006; Malaque e Gutiérrez, 2015), e geralmente não pode ser usada para tomar decisões terapêuticas. Portanto, o diagnóstico deve basear-se nas alterações clínico-patológicas características causadas pelo envenenamento botrópico, e na distribuição espacial e epidemiológica das serpentes no Brasil (Sazima, 1998; Barraviera e Pereira, 1999). De acordo com esses critérios, o diagnóstico de envenenamento fatal por *Bothrops* foi estabelecido em todos os cinco equinos.

Os diagnósticos diferenciais do envenenamento por *Bothrops* incluem lesões traumáticas, doenças clostridiais e outros distúrbios hemorrágicos. Em todos os equinos investigados, não houve evidência dessas doenças, as quais foram excluídas devido a epidemiologia, sinais clínicos, identificação das marcas das presas (equinos 4 e 5), ausência de produção de gás no membro no local do inchaço (equinos 1, 2 e 3) e achados patológicos. Sendo assim, reportamos o envenenamento natural fatal por *Bothrops* spp. em cinco equinos. Os achados clínicos e patológicos são semelhantes as características dos envenenamentos por *Bothrops* spp. em equinos experimentalmente envenenados, outras espécies animais e humanos. Nossos achados destacam a gravidade do quadro de envenenamento botrópico em equinos e fornecem evidências para o diagnóstico e tratamento terapêutico desses casos.

5. CONCLUSÕES

Envenenamentos por serpentes em equinos representam um desafio diagnóstico para os profissionais, pois raramente o caso é testemunhado ou a serpente é identificada, portanto, a associação de características clínicas, patológicas e epidemiológicas é essencial para o diagnóstico correto.

Neste estudo, o diagnóstico de envenenamento botrópico fatal em cinco equinos foi estabelecido pela associação dos achados clínicos, laboratoriais e patológicos. O inchaço local, hemorragias disseminadas, incoagulabilidade sanguínea, urina escura (mioglobínúria/hemoglobínúria) e a lesão renal aguda são as principais alterações observadas no envenenamento agudo por *Bothrops* spp.

Agradecimentos

Agradecemos pelo apoio técnico do Dr. Claudio Severo Lombardo de Barros (Professor visitante na Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS) e ao Anderson Saravia (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria – INIA – La Estanzuela) pela confecção do mapa. Ao Dr. José María Gutiérrez (Universidad de Costa Rica), pela revisão e sugestões ao nosso estudo. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

6. REFERÊNCIAS

- 1- Aragão, A.P., Tokarnia, C.H., Graça, F.A.S., França, T.N., Coelho, C.D., Caldas, A.S., Peixoto, P.V., 2010. Experimental poisoning by *Bothropoides jararaca* and *Bothrops jararacussu* in sheep: clinic-pathological and laboratory aspects. *Pesq. Vet. Bras.* 30, 717-728. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2010000900003>.
- 2- Barbosa, J.D., Sousa, M.G.S., Tokarnia, C.H., Brito, M.F., Reis, A.S.B., Bomjardim, H.A., Lopes, C.T.A., Oliveira, C.M.C., 2011. Comparison between the clinical and pathological picture in the experimental poisoning by crotalic venom. *Pesq. Vet. Bras.* 31, 967-973. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2011001100005>.
- 3- Barbosa, P.S.F., Martins, A.M.C., Alves, R.S., Amora, D.N., Martins, R.D., Toyama, M.H., Fonteles, M.C., 2006. The role of indomethacin and tezosentan on renal effects induced by *Bothrops moojeni* Lys49 myotoxin I. *Toxicon.* 47, 831-837. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.01.012>.
- 4- Barraviera, B., Pereira, P.C.M., 1999. Snake bites by *Bothrops* genus, in: Barraviera, B., *Clinical and therapeutic aspects of venomous animal's accidents*. Rio de Janeiro: EPUC, pp. 261-280.
- 5- Boer-Lima, P.A., Gontijo, J.A., Cruz-Höfling, M.A., 2002. *Bothrops moojeni* snake venom-induced renal glomeruli changes in rat. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 67 (2), 217-222.
- 6- Caldas, S.A., Tokarnia, C.H., França, T.N., Brito, M.F., Graça, F.A., Coelho, C.D., Peixoto, P.V., 2008. Clinic and pathological and laboratory aspects of experimental poisoning by *Bothrops alternatus* venom in cattle. *Pesq. Vet. Bras.* 28, 303-312. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2008000600008>.
- 7- Cheng, A.C., Currie, B.J., 2004. Venomous snakebites worldwide with a focus on the Australia-Pacific region: Current management and controversies. *J. Intensive. Care. Med.* 19, 59-69. <https://doi.org/10.1177/0885066604265799>.

- 8- Chiacchio, S.B., Martins, G.T.B., Amorim, R.M., Gonçalves, R.C., Barraviera, B., Ferreira Junior, R.S., 2011. Triple bothropic envenomation in horses caused by a single snake. *J. Venom. Anim. Toxins. Incl. Trop. Dis.* 17, 111-117. <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-91992011000100016>.
- 9- Cruz, L.S., Vargas, R., Lopes, A.A., 2009. Snakebite envenomation and death in the developing world. *Ethn. Dis.* 19, 42-46.
- 10- De Rijk, E.P.C.T., Ravesloot, W.T.M., Wijnands, Y., Esch, E.V., 2003. A fast histochemical staining method to identify hyaline droplets in the rat kidney. *Toxicol Pathol.* 31, 462-464. <https://doi.org/10.1080/01926230390213775>.
- 11- Escalante, T., Rucavado, A., Fox, J.W., Gutiérrez, J.M. 2011. Key events in microvascular damage induced by snake venom hemorrhagic metalloproteinases. *J. Proteomics.* 74(9), 1781–1794. doi: 10.1016/j.jprot.2011.03.026.
- 12- Fernandes, D.S., Franco, F.L., Fernandes, R., 2004. Systematic revision of the Genus *Lachesis* Daudin, 1803 (Serpentes, Viperidae). *Herpetologica.* 60(2), 245-260.
- 13- Ferreira Júnior, R.S., Barravieira B., 2004. Management of venomous snakebites in dogs and cats in Brazil. *J. Venom. Anim. Toxins. Incl. Trop. Dis.* 10, 112-132. <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-91992004000200002>.
- 14- Fielding, C., Pusterla, N., Magdesian, G., Higgins, J.C., Meier, C., 2011. Rattlesnake envenomation in horses: 58 cases (1992-2009). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 238, 631-635. <https://doi.org/10.2460/javma.238.5.631>.
- 15- Franco, R.L., Rocha, C.C., Jorge, M.T., Ribeiro, L.A., 2001. Snakebites in Southern Minas Gerais State, Brazil. *J. Venom. Anim. Toxins. Incl. Trop. Dis.* 7, 56-68. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-79302001000100005>.

- 16- Gay, C.C., Maruñak, S.L., Teibler, P., Ruiz, R., Pérez, A.O., Leiva, L.C., 2009. Systemic alterations induced by a *Bothrops alternatus* hemorrhagic metalloproteinase (baltergin) in mice. *Toxicon*. 53, 53-59. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.10.010>.
- 17- Graça, F.A.S., Peixoto, P.V., Coelho, C.D., Caldas, A.S., Tokarnia, C.H., 2008. Clinical and pathological aspects of experimental *Crotalus* poisoning in cattle. *Pesq. Vet. Bras.* 28, 261-270. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2008000600001>.
- 18- Grondin, T.E., Dewitt, S.F., 2010. Normal hematology of the horse and donkey. In: Weiss, D.J., Wardrop, K.J. (Eds), *Schalm's Veterinary Hematology*. 6.ed. Iowa: Wiley-Blackwell, pp.821-828.
- 19- Grunert, E., 1967. Beobachtungen über Schlangenbissverletzungen bei grossen Haustieren in Süd-Brasilien. *Dtsch Tierärztl Wochenschr.* 20, 531-532.
- 20- Grunert, E., Grunert, D., 1969. Beobachtungen von *Bothrops*-Schlangenbissverletzungen bei Rind und Pferd in Rio Grande do Sul, Brasilien. *Veterinär-Medizinische Nachrichten*. 3, 217:232.
- 21- Gutiérrez, J.M., Calvete, J.J., Habib, A.G., Harrison, R.A., Williams, D.J., Warrell, D.A., 2017. Snakebite envenoming. *Nat. Rev. Dis. Primers*, 3,17063. [doi:10.1038/nrdp.2017.63](https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.63).
- 22- Gutiérrez, J.M., Rucavado, A., Chave, F., Díaz, C., Escalante, T., 2009. Experimental pathology of local tissue damage induced by *Bothrops asper* snake venom. *Toxicon*. 54, 958-975. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.01.038>.
- 23- Gutiérrez, J.M., Rucavado, A., Escalante, T., Díaz, C., 2005. Hemorrhage induced by snake venom metalloproteinases: biochemical and biophysical mechanisms involved in microvessel damage. *Toxicon*. 45, 97-1011. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.02.029Get>.

- 24- Gutiérrez, J.M., Theakston, R.D.G., Warrell, D.A., 2006. Confronting the Neglected Problem of Snake Bite Envenoming: The Need for a Global Partnership. *PLoS Med.* 3 (6), 1-5. doi: 10.1371/journal.pmed.0030150.
- 25- Herrera, C., Escalante, T., Voisin, M.B., Rucavado, A., Morazán, D., Macêdo, J.K.A., Fox, J.W., 2015. Tissue localization and extracellular matrix degradation by PI, PII and PIII snake venom metalloproteinases: clues on the mechanisms of venom-induced hemorrhage. *PLoS. Negl. Trop. Dis.* 9 (4), 0003731. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003731>.
- 26- Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L., 2008. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th ed. San Diego: Academic Press.
- 27- Leal, M.L.R., Aires, A.M.C., Fillipi, A., Trost, M.E., 2013. Clinical and pathological observations associated with snake envenomation in two sheep. *Acta. Sci. Vet.* 41, 1-5.
- 28- Lopes, C.T.A., Tokarnia, C.H., Brito, M.F., Sousa, M.G., Oliveira, C.M.C., Silva, N.S., Lima, D.H.S., Barbosa, J.D., 2012. Clinical and pathological aspects of experimental crotalic envenoming in horses. *Pesq. Vet. Bras.* 32, 843-849. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2012000900005>.
- 29- Machado, M., Wilson, T.M., Sousa, D.E.R., Martins, C.S., Castro, M.B. 2019. Pit viper envenomation in a barn cat. *J. Small. Anim. Pract.* 60 (2), 131. <https://doi.org/10.1111/jsap.12922>.
- 30- Malaque, C.M.S., Gutiérrez, J.M., 2015. Snakebite Envenomation in Central and South America. *Crit Care Toxicology*, 1–22. doi:10.1007/978-3-319-20790-2_146-1
- 31- Melgarejo, A.F., 2003. Venomous snake from Brazil. In: Cardoso, J.L.C., França, F.O.S., Wen, F.H., Malaque, C.M.S., Haddad, J.R.V. (Eds), *Venomous snake from Brazil: biology, clinical and therapeutics of snake envenomation*. São Paulo: Sarvier Editora; 2003. p. 33-61.

- 32- Mello, S.M., Linardi, A., Renno, A.L., Tarsitano, C.A., Pereira, E.M., Hyslop, S., 2010. Renal kinetics of *Bothrops alternatus* (Urutu) snake venom in rats. *Toxicon*. 55, 470-480. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.09.018>.
- 33- Mendez, M.C., Riet-Correa, F., 1995. Snakebite in sheep. *Vet Hum Toxicol*. 37, 62-63.
- 34- Moreira, L., Borkow, G., Ovadia, M., Gutiérrez, J.M., 1994. Pathological changes induced by BaH1, a hemorrhagic proteinase isolated from *Bothrops asper* (Terciopelo) snake venom, on mouse capillary blood vessels. *Toxicon*. 32 (8), 976-987.
- 35- Nascimento, J.M., Franchi, G.C., Nowill, A.E., Collares-Buzato, C.B., Hyslop, S., 2007. Cytoskeletal rearrangement and cell death induced by *Bothrops alternatus* snake venom in cultured Madin–Darby canine kidney cells. *Biochem and Cell Biol*. 85, 591-605. <https://doi.org/10.1139/O07-067>.
- 36- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D. 2007. Disease associated with toxins, plants, fungi, cyanobacteria, plant-associated bacteria, and venoms in ticks and vertebrate animals. In: Radostits O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D., (Eds). *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Philadelphia: Saunders Elsevier, pp. 1851-1915.
- 37- Raposo, J.B., Méndez, M.C., Bailardi, C.E.G., Raffi, M.B., 2001. A case of snakebite in a horse in southern Brazil - case report. *Revta FZVA*. 8, 51-57.
- 38- Sazima, I., 1998. Um estudo de biologia comportamental da jararaca, *Bothrops jararaca* com uso de marcas naturais. *Mem. Inst. Butantan*. 3, 83-89.
- 39- Silva, N.S., Silveira, J.A.S., Albernaz, T.T., Campos, K.F., Oliveira, C.M.C., Freitas, N.F.Q.R., Bomjardim, H.A., Barbosa, J.D., 2011. Fatal bothropic snakebite in a horse: a case report. *J. Venom. Anim. Toxins. Incl. Trop. Dis*. 17, 496-500. <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-91992011000400018>.

- 40- Sousa, L.F., Nicolau, C.A., Peixoto, P.S., Bernardoni, J.L., Oliveira, S.S., Portes-Junior, J.A., Mourão, R.H., Valente, R.H., Silva, A.M.M., 2013. Comparison of phylogeny, venom composition and neutralization by antivenom in diverse species of Bothrops complex. *PLoS Negl Trop Dis.* 7 (9) 1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002442>.
- 41- Sousa, M.G., Tokarnia, C.H., Brito, M.F., Reis, A.B., Oliveira, C.M., Freitas, N.F., Oliveira, C.H., Barbosa, J.D., 2011. Clinical and pathological aspects of the experimental poisoning by Bothrops snakes in horses. *Pesq. Vet. Bras.* 31, 773-780. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2011000900009>.
- 42- Tokarnia, C.H., Brito, M.F., Malafaia, P., Peixoto, P. V., 2008. Snake bite accident in sheep by Bothrops jararaca. *Pesq. Vet. Bras.* 12, 643-648. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2008001200014>.
- 43- Tokarnia, C.H., Peixoto, P.V., 2006. The importance of snake bites as cause of cattle death in Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 26, 55-68.
- 44- Varanda, E.A., Giannini, M.J.S.M., 1999. Biochemistry of snake venoms, in: Barraviera, B., *Clinical and therapeutic aspects of venomous animals accidents*. Rio de Janeiro: EPUC, pp. 205-223.
- 45- White, J., 2005. Snake venoms and coagulopathy. *Toxicon*, 45(8), 951–967. doi:10.1016/j.toxicon.2005.02.030.

Tabela 1. Características epidemiológicas do envenenamento botrópico fatal em equinos

Equino	Ano	Mês	Localização	Raça	Sexo	Idade	Peso (kg)	CC	LI
1	2010	Outubro	Sinop/MT	Crioula	F	5 anos	274	36 h	MTD
2	2013	Maio	Brasília/DF	MM	F	2,5 anos	368	12 h	C/F
3	2017	Fevereiro	Sidrolândia/MS	QM	F	1,5 anos	300	24 h	MTD
4	2017	Novembro	Planaltina/DF	SRD	M	8 anos	320	24 h	C/F
5	2018	Fevereiro	Brasília/DF	BH	F	4 anos	500	48 h	C/F

Raça: SRD – Sem Raça Definida; QM – Quarto de Milha, MM- Mangalarga Marchador; BH – Brasileiro de Hipismo; CC - curso clínico desde a observação do inchaço no local e sinais clínicos de envenenamento (h - horas); Local da inoculação (LI): MTD – membro torácico direito; C/F- cabeça/região do focinho e lábios.

Tabela 2. Achados hematológicos e bioquímicos de envenenamento botrópico fatal em quatro equinos

Parâmetros	Equino 2	Equino 3	Equino 4*	Equino 5*	Valores de referência ^Φ
Hematócrito (%)	19	31	ND	ND	24 - 44
Eritrócitos (10 ⁶ /μL)	4.2	8.3	ND	ND	5.5 - 9.5
Hemoglobina (g/dL)	6.3	10.5	ND	ND	8 - 14
Proteína plasmática (g/dL)	4.1	ND	4.3	ND	5.2 - 7.9
Albumina (g/dL)	ND	ND	1.6	ND	2.6 - 3.7
Globulinas (g/dL)	ND	ND	2.7	ND	2.6 - 4.0
Plaquetas (μL)	33,000	114,000	ND	31,000	200,000 - 500,000
Leucócitos (μL)	13,400	16,900	ND	ND	6,000 - 12,000
CK ^a (IU/L)	3,543	ND	2,689	ND	119 - 287
Creatinina (mg/dL)	2.8	3.9	3.5	9.2	1.2 - 1.9
Ureia (mg/dL)	123	56	96	192	21.4 - 51.3

* Não determinado devido a intensa hemoglobinemia/mioglobinemia; ND – Não determinado; ^a Creatina fosfoquinase. ^Φ (Kaneko et al., 2008; Grondin & Dewitt, 2010).

Tabela 3. Localização e intensidade de hemorragias no subcutâneo, músculo esquelético, cavidades e órgãos de equinos com envenenamento botrópico fatal

Caso	Subcutâneo						Músculo esquelético						Líquido serohemorrágico nas cavidades		Hemorragias (petéquias, equimoses, e sufusões) em órgãos							
	MTD	MTE	MPD	MPE	Cab	Pes	MTD	MTE	MPD	MPE	Cab	Pes	Tor	Abd	Pulmão	Coração	Aorta	Diafragma	Baço	Intestinos/mesentérico	Rim	Gordura perirrenal
1	+++**	+	+	+	-	-	+++**	-	-	-	-	-	+++	-	+	++	+++	++	+	++	+	++
2	+	+	+	+	+++**	+++	-	-	-	-	++**	+++	-	++	++	+	++	++	++	++	++	++
3	+++**	+	+	+	+	+	+++**	+	+	+	+	+	-	-	+	++	+	++	++	+	++	++
4	+	+	+	+	+++**	+++	+	+	-	-	+++**	+++	-	-	++	++	++	++	+	++	+	+++
5	+	+	+	+	++**	+++	+	+	+	+	++**	+++	-	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++

MTD: membro torácico direito; MTE: membro torácico esquerdo; Cab: cabeça; Pes: pescoço; Tor: cavidade torácica; Abd: cavidade abdominal

** : local da inoculação do veneno; Intensidade: + leve, ++ moderado, +++ acentuado, - sem alteração.

Tabela 4. Localização e intensidade das alterações histopatológicas no rim de equinos com envenenamento botrópico fatal

Caso	Capilares glomerulares	Espaço urinário	Túbulos renais					Interstício
	Trombose	Hemorragia	Necrose	DH	GHI	CH	CG	Hemorragia
1	+	+	++	++	+	++	++	++
2	++	++	++	+++	++	+++	++	+
3	+	+	+	++	+++	++	+	+
4	+	++	+	++	+++	++	++	+
5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++

DH: degeneração hidrópica; GHI: gotas hialinas intracitoplasmáticas; CH: cilindros hialinos; CG: cilindros granulosos;

Intensidade: + leve, ++ moderado, +++ acentuado.

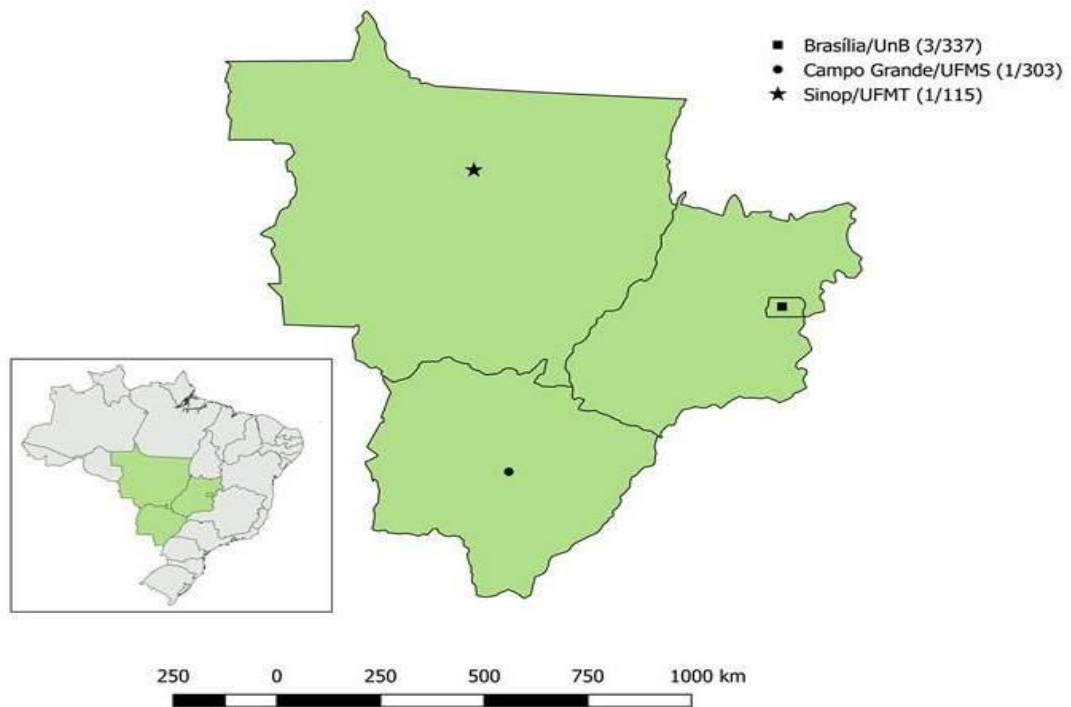


Figura 1. Regiões onde ocorreram os cinco casos de envenenamento botrótico em equinos no Brasil.



Figura 2. Envenenamento botrótico. Equino 3, membro torácico direito. (A) Aumento de volume acentuado. (B) Hemorragia acentuada no tecido subcutâneo e muscular.

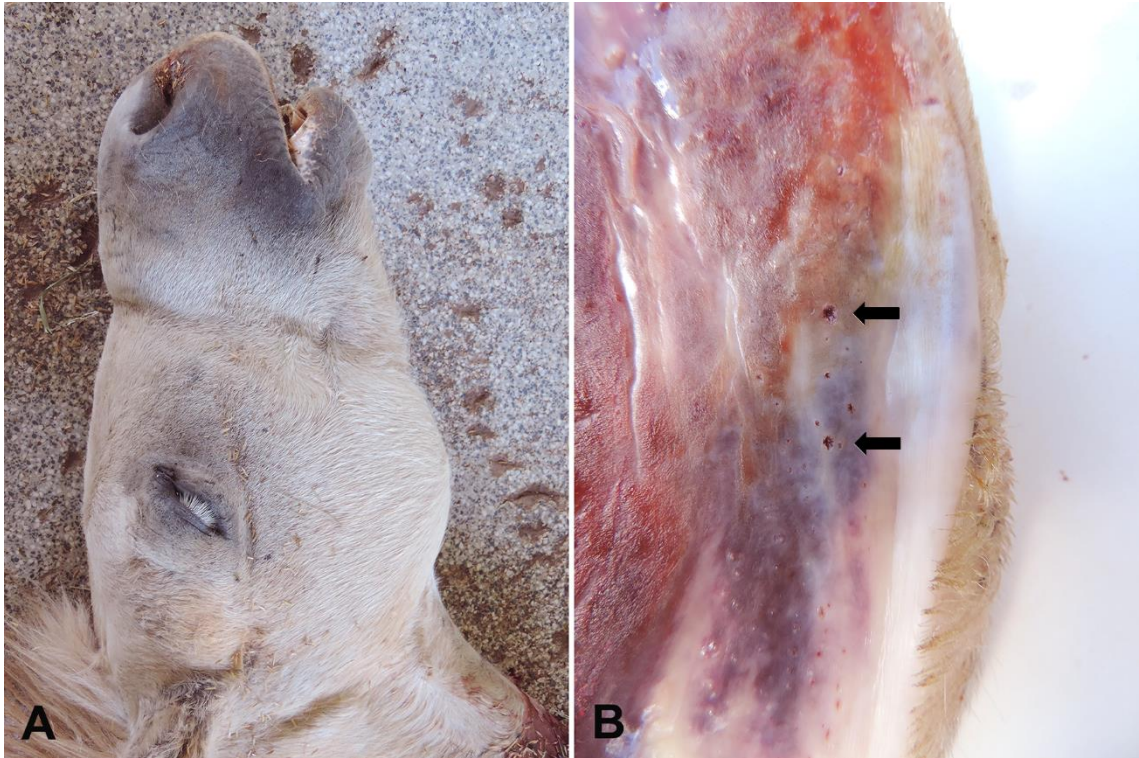


Figure 3. Envenenamento botrópico. Equino 4. (A) Cabeça. Inchaço acentuado. (B) Lábio. Marcas das presas (setas), perfurações paralelas espaçadas por 1,8 cm.



Figura 4. Envenenamento botrópico. Equino 4. Hemorragia acentuada na cabeça e pescoço.

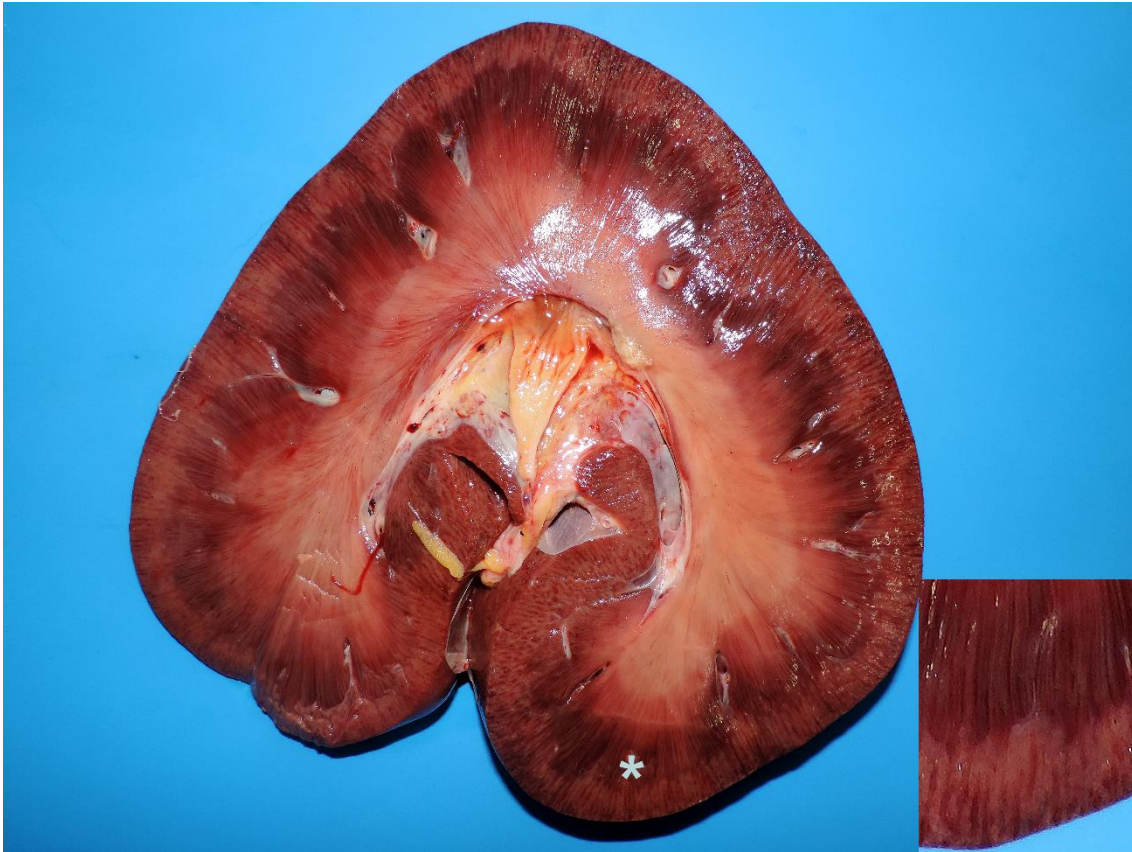


Figura 5. Envenenamento botrópico. Equino 5. Rim. Nefrose tubular aguda caracterizada por estrias esbranquiçadas radialmente dispostas pelo cortex renal. Detalhe (*).

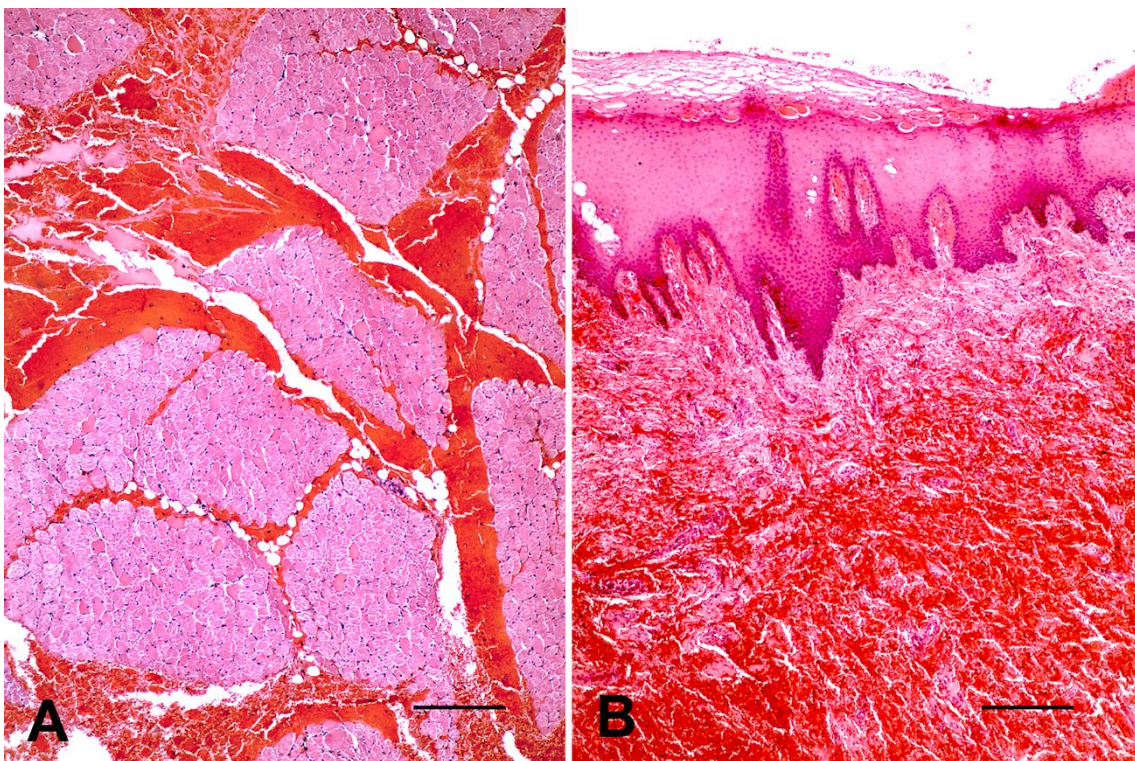


Figura 6. Envenenamento botrópico. Equino 4. Local da inoculação do veneno. (A) Músculo esquelético. Necrose muscular e hemorragia dissecante (H&E, barra=250µm). (B) Pele glabra. Dermonecrose hemorrágica difusa acentuada (H&E, barra=250µm).

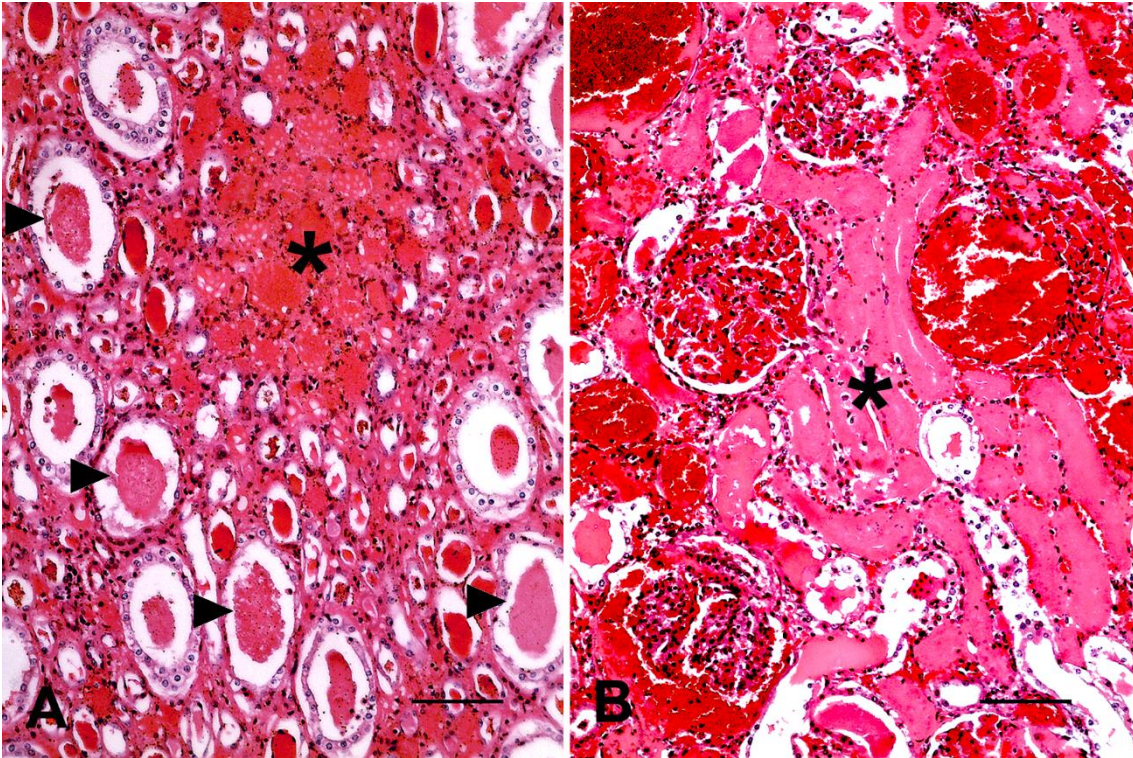


Figura 7. Envenenamento botrópico. Equino 5. Rim. (A) Região medular. Necrose tubular aguda (*) e cilindros hialinos (cabeças de setas) (H&E, barra=50 μ m). (B) CórTEX renal. Hemorragia glomerular acentuada e necrose tubular aguda (*) (H&E, barra=100 μ m).

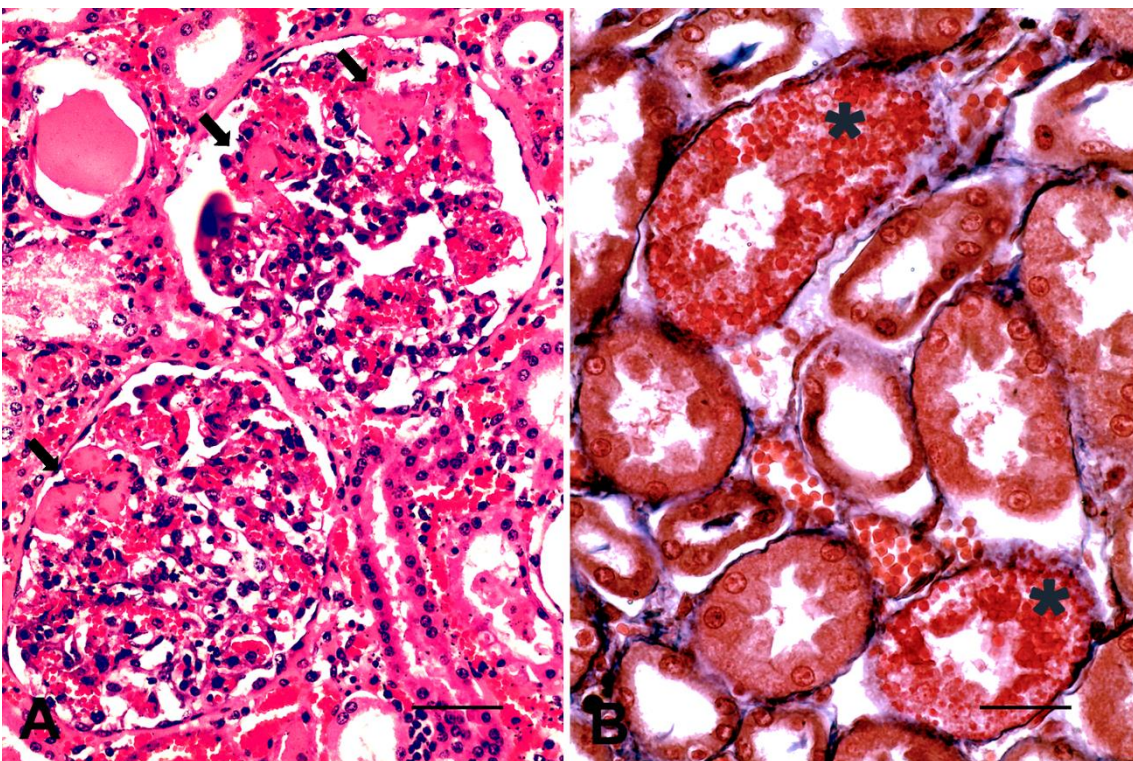


Figure 8. Envenenamento botrópico. Equino 5. Rim. (A) CórTEX renal. Trombose de capilares glomerulares (setas) (H&E, barra=25 μ m). (B) Região medular. Gotículas hialinas intracitoplasmáticas (*) em células epiteliais de túbulos contorcidos distais (Azul de anilina cromotrópico, barra=25 μ m).

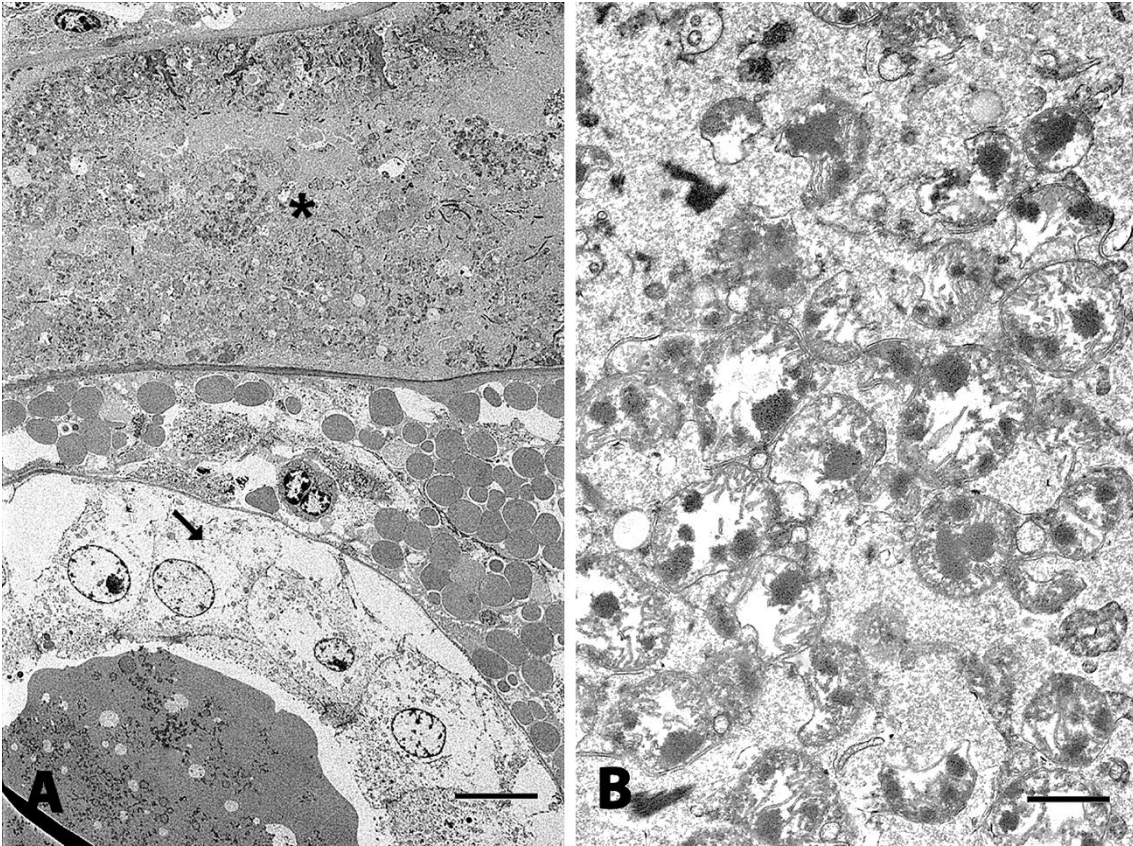


Figure 9. Envenenamento botrópico. Equino 5. Rim. (A). Córtex renal. Necrose das células epiteliais tubulares (*) com marginação da cromatina nuclear, e lise de organelas (seta) e degeneração hidrópica. (Microscopia Eletrônica de Transmissão, barra=10 μ m). (B) Mitocôndrias aumentadas de volume, com ruptura de cristas e formação de corpos eletrodensos (MET, barra=1 μ m)

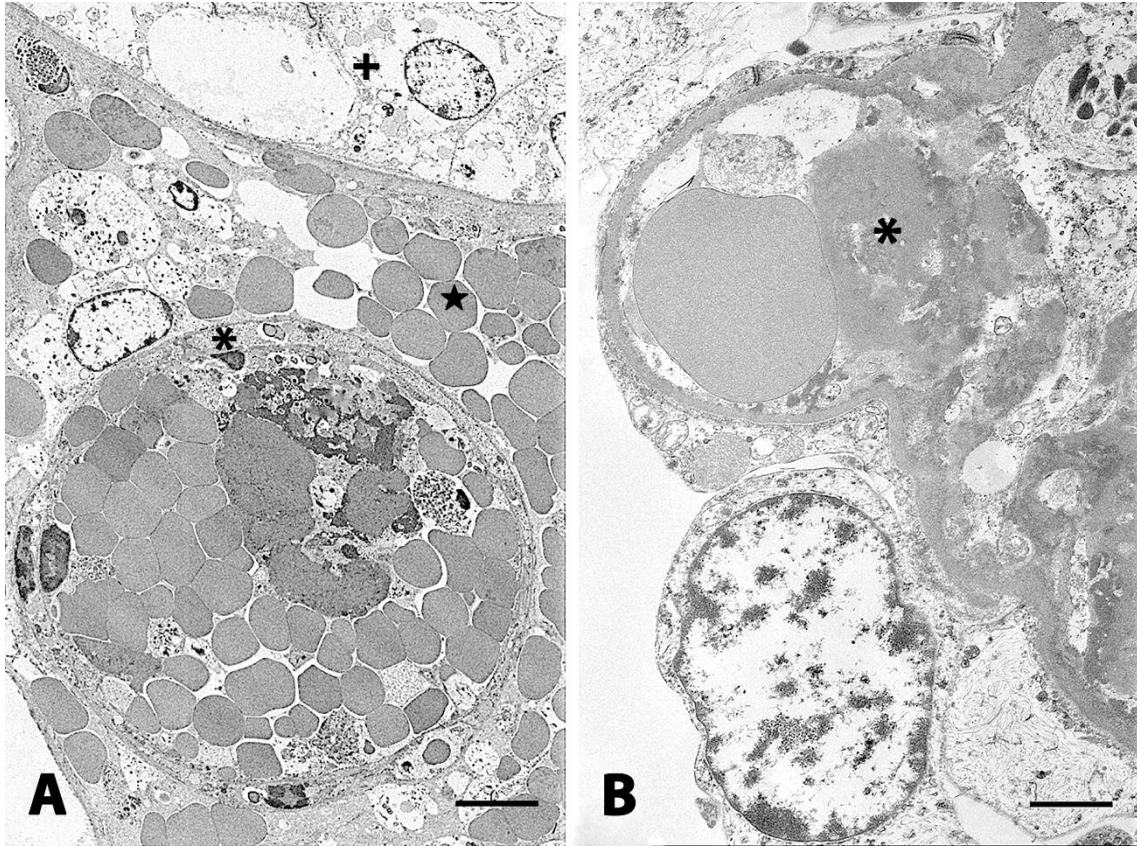


Figura 10. Envenenamento botrópico. Equino 5. Rim. (A). Capilar com necrose das células epiteliais (*), trombose e ruptura da membrana basal, e hemorragia intersticial (estrela). Hemorragia intersticial (estrela) e degeneração hidrópica de células epiteliais tubulares (cruz). (Microscopia Eletrônica de Transmissão, barra=6 μ m). (B) Trombo de fibrina em capilar glomerular (*) e podócito com degeneração hidrópica e lise de organelas (MET, barra=1 μ m).

7. Anexo I

Date: Sep 01, 2019
To: "Marcio Botelho de Castro" mbcastro@unb.br,mbcastro2005@yahoo.com.br
From: "" eesserver@eesmail.elsevier.com
Reply To: "" toxcon@elsevier.com
Subject: Your Submission - TOXCON-D-19-00176R2

Ms. Ref. No.: TOXCON-D-19-00176R2

Title: Fatal lancehead pit viper envenomation in horses

Dear Dr. Castro,

I am pleased to inform you that your manuscript has been accepted for publication in *Toxicon* or *Toxicon:X*, depending on which journal you chose during the submission process. We will ensure that we process your paper in the journal that you have chosen.

Your accepted manuscript will now be transferred to our production department and work will begin on creation of the proof. If we need any additional information to create the proof, we will let you know. If not, you will be contacted again in the next few days with a request to approve the proof and to complete a number of online forms that are required for publication.

When your paper is published on ScienceDirect, you want to make sure it gets the attention it deserves. To help you get your message across, Elsevier has developed a new, free service called *AudioSlides*, which are brief, webcast-style presentations that are shown (publicly available) next to your published article. This format gives you the opportunity to explain your research in your own words and attract interest. You will receive an invitation email to create an *AudioSlides* presentation shortly. For more information and examples, please visit www.elsevier.com/audioslides.

Please reply to toxcon@elsevier.com if you have any questions or need further information.

Thank you for submitting your work to *Toxicon*.

Yours sincerely,