

AVALIAÇÃO EM CAMUNDONGO DA EFICÁCIA DO ANTIVENENO ADMINISTRADO NO LOCAL DA INOCULAÇÃO INTRAMUSCULAR DO VENENO DE *Crotalus durissus terrificus*

Lindioneza Adriano RIBEIRO(1), Carla Lillian AGOSTINI UTESCHER(2), Sílvia Lucia Paro VIEIRA(2), Sara FENSTERSEIFER(2), Helena MUKUNO(2) & Miguel Tanús JORGE(1)

RESUMO

A eficácia do antiveneno crotálico por via intramuscular (im) no local da inoculação, também im, do veneno de *Crotalus durissus terrificus* foi avaliada em camundongos. Em três experimentos inocularam-se duas DL50 do veneno por via im e administrou-se o antiveneno de três formas: metade da DE50 por via intraperitoneal (ip) e metade por via im, no mesmo local, imediatamente após (1º) e 30' após (2º) a inoculação do veneno; quatro quintos de DE50 por via ip e um quinto por via im, no mesmo local e 30' após a inoculação do veneno (3º). O antiveneno ofereceu, por via ip, maior proteção aos camundongos (menor taxa de óbito em 48 horas) do que quando foi administrado, em parte, por via im, no local da inoculação do veneno ($p < 0,05$). Infere-se, portanto, que esta via não deve ser rotineiramente utilizada em seres humanos picados por serpente.

UNITERMOS: *Crotalus durissus terrificus*; Veneno; Antiveneno; DL50, DE50

INTRODUÇÃO

Crotalus durissus são responsáveis por cerca de, respectivamente, 8% e 14% dos acidentes por serpentes peçonhentas no Estado de São Paulo e no Brasil^{8,9} e a subespécie *Crotalus durissus terrificus* por quase todos os casos de acidente crotálico atendidos no Hospital Vital Brazil (HVB)⁶. São serpentes facilmente reconhecidas pela presença de guizo ou chocalho na extremidade da cauda^{1,5}. Possuem eficiente aparelho inoculador de peçonha que funciona como "seringa da injeção"². Portanto, provavelmente, inoculam o veneno na vítima humana por via intramuscular (im) e/ou subcutânea (sc).

Após o início de sua produção, por Vital Brazil, em 1901, o antiveneno ofídico foi recomendado para administração por via sc¹. Segundo FONSECA(1949), no tratamento do envenenamento "pode ser necessário injetar (o antiveneno) também no local da picada"². ROSENFELD (1991), entretanto, contra-indica este procedimen-

to em caso de acidente botrópico pois "conforme experimentalmente observado" aumenta a incidência de necrose¹⁰. Também não o preconiza para o tratamento dos envenenamentos por *Crotalus* ou *Micrurus* que não causam necrose local.

Publicação da Organização Mundial de Saúde (1981) recomenda a administração do antiveneno por via endovenosa¹⁶. Em 1982 publicação da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo ainda recomenda a administração de parte do antiveneno por via subcutânea, mas não no local da picada¹¹. Atualmente, a via recomendada para a administração do antiveneno é a endovenosa^{3,4,5,7}.

A tentativa de neutralização de toxina nos tecidos moles do paciente, antes que ela se distribua para o resto do organismo, é também considerada em outras situações clínicas. Assim, no tétano, quando a remoção cirúrgica da lesão reconhecida

Dados parcialmente apresentados no VI Congresso Brasileiro de Toxicologia - São Paulo - SP, Brasil, 1989.

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

(1) Hospital Vital Brazil do Instituto Butantan, São Paulo.

(2) Seção de Controle de Qualidade do Instituto Butantan.

Endereço para correspondência: Dra. Lindioneza Adriano Ribeiro, Hospital Vital Brazil, Instituto Butantan. Av. Vital Brazil, 1500. Caixa Postal 65. CEP 05504 São Paulo, SP, Brasil.

ou suspeita de ser o foco da produção da tetanospasmina é impraticável, a instalação local de antitoxina tetânica ao seu redor tem sido preconizada como medida de tratamento¹⁵.

O presente trabalho pretende avaliar, em camundongo, a eficácia da administração de antiveneno por via im, no mesmo local da inoculação, também im, do veneno de *C. d. terrificus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Veneno referência de *C. d. terrificus* produzido pelo Instituto Butantan (IB), distribuído pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), com DL50 de 11,3 µg previamente determinada em camundongos de 18 a 20 g, por via im (DL50 im)¹⁴.

Antiveneno crotálico, lote 8806138, produzido pelo IB, com dose efetiva 50% previamente determinada por soroneutralização "in vivo" por administração ip, imediatamente (DE50 0h = 0,071 ml) e 30 minutos (DE50 30' = 0,285) após a inoculação de duas DL50 im do veneno referência de *C. d. terrificus*, em camundongos de 18 a 20 gramas¹².

Sessenta e dois camundongos brancos (*Mus musculus*) de 18 a 20g sem distinção quanto a sexo, provenientes do biotério central do IB.

Seringa e agulha próprias para injeção intradérmica em humanos ("seringa e agulha de tuberculina").

Métodos

Após antissepsia da pele, o veneno e o antiveneno foram inoculados na face externa da coxa, por via im e apenas o antiveneno, através da parede abdominal do camundongo, por via ip.

1. Antiveneno administrado imediatamente após a inoculação do veneno.

Imediatamente após a inoculação de duas DL50 im do veneno na coxa de 36 camundongos, administraram-se em 20 deles, a DE50 0h do antiveneno (0,008 ml), 1/2 por via ip e 1/2 por via im, no local da inoculação do veneno e nos 16 restantes

não se administraram antiveneno (controle da atividade do veneno). Os camundongos foram observados por 48 horas e foi computado o número de sobreviventes.

2. Antiveneno administrado 30 minutos após a inoculação do veneno.

Trinta minutos após a inoculação por via im, na face externa da coxa de 90 camundongos, de duas DL50 de veneno, a DE50 30' (0,028 ml) do antiveneno foi administrada conforme se segue: totalmente por via ip em 30 camundongos; 4/5 por via ip e 1/5 por via im, no local da inoculação do veneno, em dez; 1/2 por via ip e 1/2 por via im, no local da inoculação do veneno, em 20. Os 30 restantes não receberam antiveneno (controle da atividade do veneno). Os camundongos foram observados por 48 horas e foi computado o número de sobreviventes.

A análise estatística foi realizada através do teste do X². Compararam-se os resultados obtidos com o antiveneno administrado somente por via ip com aqueles obtidos com sua administração por via ip e im.

RESULTADOS

1. Antiveneno administrado imediatamente após a inoculação do veneno.

Não houve tendência a maior proteção (menor taxa de mortalidade em 48 horas) dos camundongos que receberam parte do antiveneno no local da inoculação do veneno, quando comparado com o que se esperaria ao se administrar o antiveneno (DL50) totalmente por via ip, ou seja, 50% de mortes.

Sobreviveram oito dos 20 camundongos que receberam antiveneno e nenhum dos 16 que receberam só o veneno (Tabela 1).

2. Antiveneno administrado 30 minutos após a inoculação do veneno.

Houve maior proteção dos camundongos (menor taxa de mortalidade em 48 horas) que receberam o antiveneno apenas por via ip ($p < 0,05$), com tendência à perda da eficácia à medida que se administraram maior quantidade de antiveneno por via im e menor quantidade por via ip.

Tabela 1

Resultados da administração em camundongos de antiveneno crotálico (DE50) 1/2 ip e 1/2 im, imediatamente após e no mesmo local da inoculação im do veneno (2 DL50)

Ensaio	Sobreviventes	Óbitos	Total
Grupo experimental 1 (n=20) 2DL50 im + DE 50 0h (1/2 ip + 1/2 im)	8	12	20
Controle do veneno (n = 16) 2DL50 im	0	16	16
Total	8	28	36

DE50 = dose efetiva 50%; DL50 = dose letal 50%
 ip = intraperitoneal; im = intramuscular

Sobreviveram 12 dos 30 camundongos que receberam a DE50 30' (0,028 ml) por via ip, dois dos 10 camundongos que receberam a DE50 30' sendo 4/5 por via ip e 1/5 por via im, no local da inoculação do veneno, nenhum dos 20 camundongos que receberam a DE50 30', 1/2 por via ip e 1/2 por via im, no local da inoculação do veneno e nenhum dos 30 camundongos que não receberam antiveneno (Tabela 2).

DISCUSSÃO

Embora atualmente a via endovenosa seja a forma recomendada para a administração de antiveneno no tratamento de picadas por serpentes^{4,5,7,16}

e a injeção no local da picada seja desaconselhada¹⁶, não existem estudos comprovando que o antiveneno ofídico não neutraliza o veneno no local de sua inoculação ou, ao contrário, que é capaz de neutralizá-lo nestas condições. Pelo presente estudo observa-se que quando se administra parte do veneno por via im, no local da inoculação do veneno trinta minutos após este procedimento, a sobrevida dos camundongos é significativamente menor do que quando todo o volume é administrado por via ip. Há também uma tendência de haver menor sobrevida à medida que uma maior proporção do antiveneno é administrada no local da picada. Isto indica que a administração do antiveneno por via ip deve ser mais efetiva do que por via im, mesmo quando essa administração é realizada no

Tabela 2

Resultados da administração em camundongos de antiveneno crotálico (DE50) 30' após a inoculação im do veneno (2DL50), por via ip e por via ip e im, no local da inoculação do veneno.

Ensaio	Sobreviventes	Óbitos	Total
Grupo experimental 1 (n=30) 2DL50 im + DE 50 30' ip	12	18	30
Grupo experimental 2 (n=10) 2DL50 im + DE 50 30' (4/5 ip + 1/5 im)	2	8	10
Grupo experimental 3 (n=20) 2DL50 im + DE 50 30' (1/2 ip + 1/2 im)	0	20	20
Controle do veneno (n=30) 2DL50 im	0	30	30
Total	14	76	90

DE50 = dose efetiva 50%; DL50 = dose letal 50%
 ip = intraperitoneal; im = intramuscular

local da inoculação do veneno. Isto ocorre provavelmente porque, quando administrado por via ip, a absorção do antiveneno é mais rápida. Observe-se que mesmo para a administração imediatamente após a inoculação im do veneno, quando, evidentemente, os tecidos do camundongo não haviam tido tempo para reabsorvê-los, a administração do antiveneno no mesmo local e também por via im, não parece levar a uma maior sobrevivência dos camundongos. Embora não tenha sido utilizada a via endovenosa e sim a ip, os resultados devem ser semelhantes pois, pelo menos em experimentos com camundongos, a administração do antiveneno crotálico por via ip é quase tão efetiva quanto por via endovenosa além de ser de mais fácil realização¹³.

Apesar das causas de morte no envenenamento do camundongo poderem ser diferentes daquelas que levam o homem ao óbito e o presente estudo só ter avaliado o envenenamento crotálico, infere-se que está correta a opinião vigente de que a administração do antiveneno no local da picada não deve ser recomendada.

SUMMARY

Evaluation in mice, of the antivenom efficacy injected at the same place of the intramuscular inoculation of the *Crotalus durissus terrificus* venom

The efficacy of the *Crotalus durissus terrificus* antivenom administration by intramuscular (im) injection at the same place of the im inoculation, of the *C. d. terrificus* venom was evaluated in mice. In three experiments two DL50 of the venom were inoculated and the antivenom was administered in three different ways: half of the ED50 by intraperitoneal (ip) administration and half by injection, at the same place, immediately after the venom inoculation and thirty minutes after the im venom inoculation; four fifth of ED50 by ip administration and one fifth by injection, at the same place and thirty minutes after the venom inoculation.

The antivenom that was administered by intraperitoneal route provided a higher protection to mice (a lower death rate in a 48 hours period) than when it was administered in parts, by intramuscular injection, at the same place of the venom inoculation ($p < 0,05$). Therefore, it is concluded that this

should not be used in human beings bitten by snakes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRAZIL, V. - A defesa contra o ophidismo. São Paulo, Pocaí & Weiss, 1911.
2. FONSECA, F. - Animais peçonhentos. São Paulo, Empresa Gráfica da Revista dos Tribunais, 1949.
3. JORGE, M.T. & RIBEIRO, L.A. - Acidentes por animais peçonhentos. In: AMATO NETO, V. & BALDY, J. L. S., ed. Doenças transmissíveis. 3 ed. São Paulo, Sarvier, 1989. p. 133-141.
4. JORGE, M.T. & RIBEIRO, L.A. - Acidentes por peçonhentos e outros animais. In: FELIPPE JUNIOR, J., ed. Pronto Socorro. 2 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1990. p.846-852.
5. JORGE, M. T. & RIBEIRO, L. A. - Acidentes por serpentes peçonhentas do Brasil. Rev. Ass. méd. bras., 36: 66, 1990.
6. JORGE, M. T. & RIBEIRO, L. A. - Epidemiologia e quadro clínico do acidente por *Crotalus durissus*. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 34: 347-354, 1992.
7. MINISTÉRIO DA SAÚDE, CENTRO DE DOCUMENTAÇÃO DO MINISTÉRIO DA SAÚDE - Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes ofídicos. 1987.
8. RESENDE, C. C.; ARAUJO, F. A. A. & SALLENAVE, R. N. U. R. - Análise epidemiológica dos acidentes ofídicos. Brasília, Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Ações Básicas de Saúde, 1989.
9. RIBEIRO, L. A.; PIRES DE CAMPOS, V. A. F.; ALBUQUERQUE, M. J. & TAKAOKA, N. Y. - Epidemiological and clinical aspects of accidents due to poisonous snakes in the State of São Paulo, Brazil, from 1986 to 1988. Toxicon, 28:621, 1990.
10. ROSENFELD, G. - Acidentes por animais peçonhentos; serpentes aranhas e escorpiões. In: VERONESI, R., ed. Doenças infecciosas e parasitárias. 8 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991. p.951-962.
11. SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE, INSTITUTO BUTANTAN. HOSPITAL VITAL BRAZIL - Manual para o atendimento dos acidentes humanos por animais peçonhentos. São Paulo, 1982.
12. UTESCHER, C. L. A.; VIEIRA, S.L.P.; RIBEIRO, L.A. & JORGE M. T. - Determinação da dose efetiva 50% (DE50) do antiveneno de *Crotalus durissus terrificus* produzido no Instituto Butantan. Rev. Soc. bras. Toxicol., 2 (supl.): trab. 2.45, 1989.
13. UTESCHER, C. L. A.; VIEIRA, S. L. P.; FENSTERSEIFER, S.; RIBEIRO, L. A. & JORGE M. T. - Comparação da eficácia da administração do antiveneno

RIBEIRO, L. A.; AGOSTINI UTESCHER, C. L.; VIEIRA, S. L. P.; FENSTERSEIFER, S.; MUKUNO, H. & JORGE, M. T. - Avaliação em camundongo da eficácia do antiveneno administrado no local da inoculação intramuscular do veneno de *Crotalus durissus terrificus*. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 35 (1): 23-27, 1993.

- de *Crotalus durissus terrificus* por via intraperitoneal e intravenosa. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 24, Natal, 1990. Programa e resumos. 1990. p.96-97.
14. VIEIRA, S. L. P.; UTESCHER, C. L. A.; RIBEIRO, L. A. & JORGE, M. T. - Determinação da dose letal 50% (DL50) do veneno padrão de *Crotalus durissus terrificus* inoculado por via intramuscular. *Rev. Soc. bras. Toxicol.*, 2 (supl): trab. 2.46, 1989.
15. WEINSTEIN, L. - Tetanus. In: FEIGIN, R. D. & CHERRY, J. D. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. 2.ed. Philadelphia, Saunders, 1987.
16. WORLD HEALTH ORGANIZATION - Progress in the characterization of venoms and standardization of antivenoms. Geneva, 1981. (Who Offset Publication No. 58).

Recebido para publicação em 14/5/1992

Aceito para publicação em 18/11/1992