



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE NA AMAZÔNIA OCIDENTAL

TAMIRES NASCIMENTO DA COSTA

**ENVENENAMENTO BOTRÓPICO NO OESTE DA AMAZÔNIA BRASILEIRA:
DIAGNÓSTICO E ASPECTOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS**

Rio Branco - AC

2021

TAMIRES NASCIMENTO DA COSTA

**ENVENENAMENTO BOTRÓPICO NO OESTE DA AMAZÔNIA BRASILEIRA:
DIAGNÓSTICO E ASPECTOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Dr. Paulo Sérgio Bernarde

Coorientador: Dr. Rodrigo Medeiros de Souza

Rio Branco - AC

2021

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

C837e Costa, Tamires Nascimento da, 1996 -

Envenenamento botrópico no Oeste da Amazônia Brasileira: diagnóstico e aspectos clínico-epidemiológicos / Tamires Nascimento da Costa; orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Bernarde. Rio Branco, 2021.

42 f.: il.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Amazônia Ocidental. Mestrado em Ciências da Saúde da Amazônia Ocidental. Rio Branco, Acre, 2021.

Inclui referências e anexos.

1. Acidentes ofídicos 2. Serpentes 3. Alto Juruá - Cruzeiro do Sul (Acre) I. Bernarde, Paulo Sérgio (orientador) II. Título

CDD: 614

TAMIRES NASCIMENTO DA COSTA

**ENVENENAMENTO BOTRÓPICO NO OESTE DA AMAZÔNIA BRASILEIRA:
DIAGNÓSTICO E ASPECTOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental da Universidade Federal do Acre – UFAC.

Data da aprovação: 05 de março de 2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Sérgio Bernarde (Presidente)

Universidade Federal do Acre – UFAC

Prof. Dr. Luís Marcelo Aranha Camargo (Membro Externo)

Universidade de São Paulo - USP

Profa. Dr. Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti (Membro Interno)

Universidade Federal do Acre – UFAC

Rio Branco – AC

2021

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Maria Francisca Silva do Nascimento e *in memoriam* Francisco Brigido da Costa, pela criação voltada para a valorização dos estudos, por todo suporte financeiro e o incentivo que me deram durante a minha formação. Toda essa trajetória é por vocês.

Ao meu namorado, Tiago Ricardo Fernandes Jacó, pelo companheirismo, por ser o meu maior incentivador para o ingresso na pós-graduação e o responsável pela minha inscrição no programa, pela paciência, compreensão e apoio emocional para enfrentar as dificuldades nessa caminhada.

Aos meus amigos, Patrícia Barros Cunha e Eduardo Pacca Luna Mattar, por me acolherem com tanto amor e carinho no seu lar em Rio Branco e serem minha segunda família, me ajudando nos momentos difíceis e de tristeza pela saudade de casa e dos familiares.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me permitir realizar esse sonho, por não me deixar desanimar em meio às dificuldades encontradas que quase me fizeram desistir. Muito obrigada meu Deus por todo amor e cuidado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Sérgio Bernarde, por sempre me orientar no melhor caminho a ser trilhado durante a pesquisa e ser a voz da razão nos momentos de mudança nos direcionamentos do estudo, por todo o conhecimento, conselho e ensinamento que me foi dado durante minha formação e principalmente pela paciência e confiança depositada em mim.

À Dra. Ageane Mota da Silva, por me conceder o uso dos dados do seu doutorado no projeto de pesquisa da minha dissertação.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Rodrigo Medeiros de Souza, pelo auxílio na análise estatística da pesquisa.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental, por todo conhecimento repassado.

À Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da UFAC, especialmente o coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental, Prof. Dr. Miguel Junior Sordi Bortolini e o secretário Jerry de Sousa Matos, pelos serviços prestados nos momentos solicitados.

À Universidade Federal do Acre e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de demanda social.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I		
Figura 1	Location of the Alto Juruá region in the western Brazilian Amazon.....	22
Figura 2	A) Small specimen (29 cm) of <i>B. atrox</i> ; B) Medium specimen (90 cm) of <i>B. atrox</i> ; C) large specimen (165 cm) of <i>B. atrox</i> ; D) Puncture marks (9.9 mm) caused by small snake (30 cm); E) Puncture marks (21.6 mm) caused by medium snake (100 cm); F) Puncture marks (29.1 mm) caused by large snake (150 cm); G) Puncture marks (30 mm) caused by large snake (150 cm); H) Distance between fangs (10 mm) of a small snake (28 cm); I) Distance between fangs (30 mm) of a large snake (165 cm); J) Intense edema and puncture marks (3 cm) in leg of a patient bitten by a large snake (165 cm); K) Edema and ecchymosis in patient bitten by a medium snake (90 cm); L) Necrosis in leg of patient bitten by a large snake (150 cm); M) Small specimen (approximately 30 cm) of <i>B. atrox</i> N) of <i>B. atrox</i> in natural habitat; O) Large specimen (about 130 cm) of <i>B. atrox</i> in natural habitat.....	24
Figura 3	Relationship between the distance of punctures in bites and the length of snakes in envenomations by <i>Bothrops atrox</i> in the Alto Juruá region, western Brazilian Amazon.....	25
Figura 4	Distribution of the frequency of cases categorized by snake size in the months from July, 2018 to June, 2019 in the Alto Juruá region (western Brazilian Amazon).....	25
Capítulo II		
Figura 1	Fluxograma das etapas de seleção dos pacientes para o estudo.....	32
Figura 2	A) Resultado de WBCT20 negativo (sangue coagulado); B) Resultado de WBCT20 positivo (sangue incoagulável).....	33

RESUMO

Introdução: anualmente no Brasil ocorrem aproximadamente 28.000 envenenamentos por serpentes, o gênero *Bothrops* é responsável por 90% dos envenenamentos notificados, sendo a espécie *Bothrops atrox* a principal envolvida nos acidentes. O acidente ofídico representa um grande problema de saúde, sobretudo para as populações das áreas rurais e nas florestas da Amazônia brasileira. **Objetivo:** descrever os aspectos clínicos, epidemiológicos, laboratoriais e métodos de diagnóstico dos envenenamentos botrópicos e sua relação com o tamanho das serpentes na região do Alto Juruá, Oeste da Amazônia Brasileira. **Material e Métodos:** foram coletados dados de prontuários clínicos, identificação das serpentes e entrevistas com vítimas de acidentes ofídicos admitidas no Hospital Regional do Juruá em Cruzeiro do Sul (Acre). Foram comparadas as variáveis sexo, área de ocorrência, tipo de ambiente, período do dia, sazonalidade, região anatômica da picada, altura da picada, presença de duas puncturas, distância entre as puncturas, antigenemia, sinais, sintomas e complicações locais e sistêmicas apresentadas pelo paciente, exames laboratoriais (tempo de coagulação Lee-White, teste de coagulação sanguínea em 20 minutos, leucócitos, plaquetas e níveis de creatinina), gravidade, número de ampolas de soro antiofídico, tempo entre o acidente e o atendimento e tempo de internação com o tamanho das serpentes. **Resultados:** nos resultados obtidos foram identificados 92 acidentes causados por *Bothrops atrox*, 53,3% dos casos por serpentes pequenas, durante a estação chuvosa, a maior parte dos casos foi classificado como leve (52,2%), causados principalmente por serpentes pequenas e os acidentes graves foram atribuídos a espécimes grandes. A antigenemia positiva e a marca de duas puncturas na pele foi mais evidente em cobras de grande porte. O método WBCT20 se mostrou uma importante ferramenta para auxiliar no diagnóstico rápido do envenenamento botrópico. **Conclusão:** a gravidade do envenenamento e a distância entre as puncturas estão correlacionados ao tamanho da serpente, essas informações são imprescindíveis para que o profissional de saúde possa determinar a gravidade do acidente e o prognóstico da vítima. O teste de coagulação WBCT20 também se mostrou eficaz e prático na detecção de coagulopatia e pode ser uma ferramenta promissora no diagnóstico de envenenamentos em locais isolados.

Palavras-chave: Acidentes ofídicos, Alto Juruá, Serpentes.

ABSTRACT

Introduction: annually in Brazil there are approximately 28,000 poisonings by snakes, the Bothrops genus is responsible for 90% of the reported poisonings, with the Bothrops atrox species being the main one involved in accidents. The snakebite accident represents a major health problem, especially for people in rural areas and in the forests of the Brazilian Amazon. Objective: to describe the clinical, epidemiological, laboratory and diagnostic methods of botropic poisonings and their relationship with the size of the snakes in the Alto Juruá region, western Brazilian Amazon. **Material and Methods:** data were collected from medical records, identification of snakes and interviews with victims of snakebites admitted to the Regional Hospital of Juruá in Cruzeiro do Sul (Acre). The variables sex, area of occurrence, type of environment, time of day, seasonality, anatomical region of the bite, height of the bite, presence of two punctures, distance between the punctures, antigenemia, signs, symptoms and local and systemic complications were compared. by the patient, laboratory tests (Lee-White clotting time, 20-minute blood clotting test, leukocytes, platelets and creatinine levels), severity, number of ampoules of antiophidic serum, time between accident and service and length of hospital stay with the size of the snakes. **Results:** in the results obtained 92 accidents caused by Bothrops atrox were identified, 53.3% of the cases by small snakes, during the rainy season, most of the cases were classified as mild (52.2%), caused mainly by small snakes and serious accidents were attributed to large specimens. The positive antigenemia and the two puncture marks on the skin were more evident in large snakes. The WBCT20 method proved to be an important tool to assist in the rapid diagnosis of botropic poisoning. **Conclusion:** the envenomation severity and the distance between the punctures are correlated to the size of the snake, this information is essential for the health professional to determine the severity of the accident and the victim's prognosis. The WBCT20 coagulation test also proved to be effective and practical in detecting coagulopathies and can be a promising tool in the diagnosis of poisonings in isolated locations.

Keywords: Snakebites, Alto Juruá, Snakes.

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO	11
2. INTRODUÇÃO	12
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
4. OBJETIVOS	18
4.1 OBJETIVO GERAL.....	18
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
5. CAPÍTULO I – RELATIONSHIP BETWEEN SNAKE SIZE AND CLINICAL, EPIDEMIOLOGICAL AND LABORATORY ASPECTS OF <i>Bothrops atrox</i> SNAKEBITES IN THE WESTERN BRASILIAN AMAZON	19
6. CAPÍTULO II – EFICÁCIA DO TESTE DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA EM 20 MINUTOS (WBCT20) NA CONFIRMAÇÃO DE ENVENENAMENTO OFÍDICO EM UM HOSPITAL NO OESTE DA AMAZÔNIA BRASILEIRA	28
7. CONCLUSÃO GERAL	39
8. ANEXOS	40
8.1 PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....	40
8.2 CITES PER DOC E FATOR DE IMPACTO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL.....	44

1. APRESENTAÇÃO

A dissertação apresentada a seguir, intitulada “Envenenamento botrópico no Oeste da Amazônia Brasileira: diagnóstico e aspectos clínico-epidemiológicos” está organizada nos tópicos: Introdução, Objetivos, Capítulo I, Capítulo II, Conclusão Geral, Referências Bibliográficas e Anexos.

Os capítulos I é um artigo original intitulado “Relação entre o tamanho da serpente com os aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais dos acidentes por *Bothrops atrox* no Oeste da Amazônia Brasileira”; publicado na Revista Toxicon.

O capítulo II, é uma comunicação breve que tem por título “Eficácia do teste de coagulação sanguínea em 20 minutos (WBCT20) na confirmação de envenenamento ofídico em um hospital no oeste da Amazônia Brasileira”, o qual foi submetido à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.

Posteriormente, é apresentada uma conclusão geral sobre a pesquisa abordando os principais resultados de cada capítulo. Por fim, são apresentadas as referências utilizadas no trabalho, seguida dos anexos.

2. INTRODUÇÃO

Acidentes ofídicos encontram-se na lista de doença tropical negligenciada pela Organização Mundial de Saúde, especialmente em países emergentes (CHIPPAUX, 2017). Em algumas regiões do mundo como a África, Ásia, Oceania, América Central e América Latina são considerados um grave problema de saúde pública por conta da taxa de morbidade e mortalidade (GUTIÉRREZ, 2014). Estimativas apontam que entre 1,8 a 2,7 milhões de pessoas são acometidas por envenenamentos por serpentes a cada ano no planeta e destas 81.410 a 137.880 evoluem para o óbito (GUTIÉRREZ et al., 2017; WILLIAMS et al., 2019).

Anualmente no Brasil ocorrem aproximadamente 28.000 envenenamentos por serpentes e em média 125 óbitos (BERNARDE, 2014; MOTA-DA-SILVA et al., 2020). Em todo o país são conhecidas 406 espécies de serpentes, das quais 67 são consideradas peçonhentas, pertencendo às famílias Elapidae (gêneros *Micrurus* e *Leptomicrurus*) e Viperidae (gêneros *Bothrocophias*, *Bothrops*, *Crotalus* e *Lachesis*) (COSTA; BÉRNILS 2018; BERNARDE et al., 2018). A região Amazônica apresenta a maior incidência do país com 46,51 casos por 100.000 habitantes (MAGALHÃES et al., 2018).

O gênero *Bothrops* é responsável por 90% dos envenenamentos notificados no Brasil (BERNARDE, 2014; BERTOLOZZI et al., 2015). Dentro do gênero, a serpente *Bothrops atrox* é a principal causadora de acidentes por conta da sua abundância na Amazônia, comparada com as demais espécies peçonhentas, devido sua característica generalista quanto à alimentação e habitat, sendo facilmente encontrada em diversos ambientes principalmente os espécimes pequenos (OLIVEIRA; MARTINS, 2001; PARDAL et al., 2004; TURCI et al., 2009; BISNETO; KAEFER, 2019).

Os acidentes por serpentes são problemas de saúde enfrentados principalmente por moradores de florestas e indígenas e representam riscos ocupacionais para trabalhadores que atuam nas atividades de caça, pesca e extrativismo (BERNARDE; GOMES, 2012) especialmente no extrativismo de frutos de palmeiras (MOTA-DA-SILVA et al., 2019a). O ofidismo é um agravo de saúde comum para as populações das áreas rurais e nas florestas da Amazônia brasileira, pois muitos casos ocorrem em lugares isolados e distantes (PIERINI et al., 1996; WALDEZ; VOGT, 2009; MOTA-DA-SILVA et al., 2019b; MOTA-DA-SILVA et al., 2020). A letalidade dos casos está diretamente ligada ao atraso no atendimento

médico, que é favorecido pela distância entre as unidades de saúde e as áreas rurais onde ocorre predominância dos acidentes (TAVARES et al., 2017).

A gravidade do acidente ofídico está diretamente ligada à região anatômica atingida, peso, idade do paciente, o tempo entre o acidente e a soroterapia, a qualidade da assistência, além de fatores relacionados à serpente (comprimento e idade) (FRANÇA; MÁLAQUE, 2009; ROODT et al., 2016). Estudos apontam que os espécimes de serpentes maiores são responsáveis por envenenamentos mais graves (CORBIT; HAYES, 2016; HAYES et al., 2017).

Anteriormente, acreditava-se que serpentes mais jovens fossem mais perigosas, por não dosarem a quantidade de veneno inoculada no momento do acidente (HAYES, 1991), mas pesquisas com cascavéis (e.g. HAYES et al., 2017) provaram que serpentes maiores apresentaram envenenamento mais severo e tempo de internação prolongado da vítima (JANES et al., 2010). Em um estudo com *Bothrops moojeni*, foi observado que serpentes grandes promovem sintomas locais a nível tecidual (edema, necrose e infecção secundária), causando acidentes mais graves, provavelmente por injetarem quantidade de veneno mais elevadas e com maior atividade proteolítica (KOUYOUMDJIAN; POLIZELLI, 1989).

É importante salientar que a diferença na dieta pode influenciar na toxicidade do veneno. Serpentes juvenis de *B. jararacuçu*, tem o hábito de alimentar-se predominantemente de presas ectotérmicas como anfíbios, já espécimes grandes preferem mamíferos de tamanhos variados (MARTINS et al., 2002). Alguns estudos mostram que *B. atrox*, possui uma dieta generalista, consumindo centopeias, anfíbios anuros, lagartos e mamíferos, apresentando uma mudança ontogenética de presas ectotérmicas para endotérmicas (MARTINS; OLIVEIRA, 1998; BISNETO; KAEFER, 2019).

Espécimes neonatos e juvenis de *B. atrox* causam com mais frequência coagulopatias se comparado aos adultos, pois seu veneno possui maior atividade pró-coagulante do veneno (BERNAL et al., 2019), resultado encontrado também em espécies de *B. jararacussu* devido à presença de metaloproteinases no veneno de juvenis (FREITAS-DE-SOUZA et al., 2020).

Existe uma necessidade de fazer levantamento de dados epidemiológicos em comunidades da região amazônica para diminuir a subnotificação dos casos e auxiliar na criação de estratégias para diminuição da incidência (WALDEZ; VOGT, 2009). A literatura apresenta uma diversidade de estudos sobre as características clínicas e epidemiológicas dos

acidentes ofídicos, porém são escassos os trabalhos que abordam os aspectos sobre a serpente responsável pelo envenenamento (BERNAL et al., 2019). O tamanho da serpente e outras características podem ser informações valiosas na prescrição médica. Serpentes adultas apresentam o comprimento do corpo e distâncias entre as presas maiores. A presença das perfurações das presas na pele da vítima pode ser uma informação importante para profissionais de saúde, estimarem o tamanho do animal e a gravidade clínica do caso (HAYES et al., 2017).

Além disso, o diagnóstico do envenenamento sistêmico ainda é um desafio para a saúde pública, em muitos locais. Principalmente localidades rurais, que dificilmente apresentam estrutura física adequada que disponha de laboratórios. Nesses lugares o teste de coagulação sanguínea em 20 minutos (WBCT20) poderia ser implantado como um método simples para auxiliar no diagnóstico do envenenamento sistêmico (GAUS et al., 2013). Apesar de ser recomendado pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2010), esse teste ainda é pouco utilizado como método padrão nos hospitais para determinar a presença de coagulopatia. Porém estudos recentes (GAUS et al., 2013; BENJAMIN et al., 2018; RAJESWARI; SUNEETHA, 2019; THONGTONYONG; CHINTHAMMITR, 2020) demonstram que o método possui sensibilidade satisfatória para detectar a alteração da coagulação sanguínea em acidentes ofídicos com hemotoxicidade.

Informações acerca dos aspectos clínicos e epidemiológicos dos acidentes ofídicos são imprescindíveis para o desenvolvimento de políticas públicas para redução do número de casos, estratégias de promoção da saúde e treinamento dos profissionais de saúde. Conhecer as características relacionadas à serpente também é importante para o manejo clínico dos casos. Além de que, o uso de um método prático para diagnóstico de coagulopatias é necessário no atendimento às vítimas em locais isolados.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENJAMIN, J.M.; CHIPPAUX, J.P.; SAMBO, B.T.; MASSOUGBODJI, A. Delayed double reading of whole blood clotting test (WBCT) results at 20 and 30 minutes enhances diagnosis and treatment of viper envenomation. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**. v. 24, n. 14, p. 1-12, 2018.
- BERNAL, J.C.C.; BISNETO, P.F.; PEREIRA, J.P.T.; IBIAPINA, H.N.S.; SARRAFF, L.K.S.; MONTEIRO-JÚNIOR, C.; et al. “Bad things come in small packages”: predicting venom-induced coagulopathy in *Bothrops atrox* bites using snake ontogenetic parameters. **Clinical Toxicology**. 2019.
- BERNARDE, P.S. **Serpentes peçonhentas e acidentes ofídicos no Brasil**. São Paulo: Anolis Books Editora; 2014, p. 223.
- BERNARDE, P.S.; GOMES, J.O. Serpentes peçonhentas e ofidismo em Cruzeiro do Sul, Alto Juruá, Estado do Acre, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 42, n. 1, p. 65 – 72, 2012.
- BERNARDE, P.S.; TURCI, L.C.B.; ABEGG, A.D.; FRANCO, F.L. A remarkable new species of coral snake of the *Micrurus hemprichii* species group from the Brazilian Amazon. **Salamandra**. v. 54, p. 249-258, 2018.
- BERTOLOZZI, M.R.; SCATENA, C.M.C.; FRANÇA, F.O.S. Vulnerabilities in snakebites in Sao Paulo, Brazil. **Revista de Saúde Pública**. v. 49, n. 82, p. 1-7, 2015.
- BISNETO, P.F.; KAEFER, I.L. Reproductive and feeding biology of the common lancehead *Bothrops atrox* (Serpentes, Viperidae) from central and southwestern Brazilian Amazonia. **Acta Amazonica**. v. 49, n. 2, p. 105-113, 2019.
- CHIPPAUX, J.P. Snakebite envenomation turns again into a neglected tropical disease! **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**. v. 23, n. 38, 2017.
- CORBIT, A.G., HAYES, W.K. Factors that influence the clinical severity of venomous snakebites in Southern California. **Toxicon**. v. 117, p. 102-111, 2016.
- COSTA, H. C.; BÉRNILS, R. S. Répteis do Brasil e suas Unidades Federativas: Lista de espécies. **Herpetologia Brasileira**. v. 7, p. 11–57, 2018.
- FRANÇA, F.O.S.; MÁLAQUE, C.M.S. Acidente botrópico. p. 81-95 In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD JR., V. **Animais peçonhentos no Brasil – Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2009.
- FREITAS-DE-SOUSA, L.A.; NACHTIGALL, P.G.; PORTES-JUNIOR, J.A.; HOLDING, M.L.; NYSTROM, G.S.; ELLSWORTH, S.A.; et al. Size Matters: An Evaluation of the Molecular Basis of Ontogenetic Modifications in the Composition of *Bothrops jararacussu* Snake Venom. **Toxins**. v. 12, n. 791, 2020.
- GAUS, D.P.; HERRERA, D.F.; TROYA, C.J.; GUEVARA, A.H. Management of snakebite and systemic envenomation in rural Ecuador using the 20-minute whole blood clotting test. **Wilderness & Environmental Medicine**. v. 24, p. 345-350, 2013.

- GUTIÉRREZ, J.M. Current challenges for confronting the public health problem of snakebite envenoming in Central America. **Journal Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**. v. 20, n. 7, 2014.
- GUTIÉRREZ, J.M.; CALVETE, J.J.; HABIB, A.G.; HARRISON, R.A.; WILLIAMS, D.J.; WARRELL, D.A. Snakebite envenoming. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3:17063. Epub 2017.
- HAYES, W.K. Ontogeny of striking, prey-handling and envenomation behavior of prairie rattlesnakes (*Crotalus v. viridis*). **Toxicon**. v. 29, n. 7, pp. 867-873, 1991.
- HAYES, W. K.; CORBIT, A. G.; CARDWELL, M. D.; HERBERT, S. S. Interfang distances of rattlesnakes: sexual, interspecific, and body size-related variation, and implications for snakebite research and management. **Wilderness & Environmental Medicine**. v. 28, n. 2, p. 101-107, 2017.
- JANES, D.N.; BUSH, S.P.; KOLLURU, G.R. Large snake size suggests increased snakebite severity in patients bitten by rattlesnakes in Southern California. **Wilderness & Environmental Medicine**. v. 21, p. 120-126, 2010.
- KOUYOUMDJIAN, J.A., POLIZELLI, C. Acidentes ofídicos causados por *Bothrops moojeni*: correlação do quadro clínico com o tamanho da serpente. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 31, n. 2, p. 84-90, 1989.
- MARTINS, M., OLIVEIRA, M.E. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. **Herpetological Natural History**. v. 6, n. 2, p. 78-150. 1998.
- MARTINS, M.; MARQUES, O.; SAZIMA, I. Ecological and phylogenetic correlates of feeding habits in neotropical pitvipers of the genus *Bothrops*. In **Biology of the Vipers**; Schuett, G.W., Hoggren, M., Douglas, M.E., Greene, H.W., Eds.; Eagle Mountain Publishing: Eagle Mountain, UT, USA, 2002; p. 307–328.
- MAGALHÃES, S.F.V.; PEIXOTO, H.M.; MOURA, N.; MONTEIRO, W.M.; OLIVEIRA, M.R.F. Snakebite envenomation in the Brazilian Amazon: a descriptive study. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 00, p. 1–9, 2018.
- MOTA-DA-SILVA, A.; SACHETT, J.; MONTEIRO, W.M.; BERNARDE, P.S. Extractivism of palm tree fruits: A risky activity because of snakebites in the state of Acre, Western Brazilian Amazon. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, e-20180195, 2019a.
- MOTA-DA-SILVA, A.; COLOMBINI, M.; MOURA-DA-SILVA, A.M.; SOUZA, R.M.; MONTEIRO, W.M.; BERNARDE, P.S. Ethno-knowledge and attitudes regarding snakebites in the Alto Juruá region, Western Brazilian Amazonia. **Toxicon**, v. 171, p. 66-77, 2019b.
- MOTA-DA-SILVA, A.; COLOMBINI, M.; MOURA-DA-SILVA, A.M.; SOUZA, R.M.; MONTEIRO, W.M.; BERNARDE, P.S. Epidemiological and clinical aspects of snakebites in the upper Juruá River region, western Brazilian Amazonia. **Acta Amazonica**. v. 50, n. 1, p. 90-99, 2020.

OLIVEIRA, M.E.; MARTINS, M. When and where to find a pitviper: activity patterns and habitat use of the lancehead, *Bothrops atrox*, in central Amazonia, Brazil. **Herpetological natural history**. v. 8, n. 2, p. 101-110, 2001.

PARDAL, P.P.; SOUZA, S.M.; MONTEIRO, M.R.; FAN, H.W.; CARDOSO, J.L.; FRANÇA, F.O.; et al. Clinical trial of two antivenoms for the treatment of *Bothrops* and *Lachesis* bites in the north eastern Amazon region of Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 98, n. 1, p. 28-42, 2004.

PIERINI, S.V.; WARRELL, D.A.; de PAULO, A.; THEAKSTON, R.D. High incidence of bites and stings by snakes and other animals among rubber tappers and Amazonian indians of the Juruá Valley, Acre state, Brazil. **Toxicon**. v. 34, p. 225-236, 1996.

RAJESWARI, G.K; SUNEETHA, O. A Study on Whole Blood Clotting Test Vs. International Normalized Ratio with Whole Blood Clotting Test In Management of Hemotoxic Snake Envenomation in a Tertiary Care Hospital, Guntur. **IOSR Journal of Dental and Medical Sciences**. v. 18, n. 8, p. 15-21, 2019.

ROODT, A.R.; BOYER, L.V.; LANARI, L.C.; IRAZU, L.; LASKOWICZ, R.D.; SABATTINI, P.L.; et al. Venom yield and its relationship with body size and fang separation of pit vipers from Argentina. **Toxicon**. v. 121, p. 22-29, 2016.

TAVARES, A.V.; ARAÚJO, K.A.M.; MARQUES, M.R.V.; VIEIRA, A.A.; LEITE, R.S. The epidemiology of snakebite in the Rio Grande do Norte State, Northeastern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 59, e52, 2017.

THONGTONYONG, N.; CHINTHAMMITR, Y. Sensitivity and specificity of 20-minute whole blood clotting test, prothrombin time, activated partial thromboplastin time tests in diagnosis of defibrination following Malayan pit viper envenoming. **Toxicon**. v. 185, p. 188–192, 2020.

TURCI, L.C.B.; ALBUQUERQUE, S.; BERNARDE, P.S.; MIRANDA, D.B. Uso do hábitat, atividade e comportamento de *Bothrops bilineatus* e de *Bothrops atrox* (Serpentes: Viperidae) na floresta do Rio Moa, Acre, Brasil. **Biota Neotropica**. v. 9, n. 3, p. 197-206, 2009.

WALDEZ, F.; VOGT, R.C. Aspectos ecológicos e epidemiológicos de acidentes ofídicos em comunidades ribeirinhas do baixo rio Purus, Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**. v. 39, n. 3, p. 681-692, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, REGIONAL OFFICE FOR SOUTH-EAST ASIA, 2010. **Guidelines for the Management of Snake-Bites**. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/204464>> . Acesso em Agost de 2020.

WILLIAMS, D. J.; FAIZ, M. A.; ABELA-RIDDER, B.; AINSWORTH, S.; BULFONE, T. C.; et al. Strategy for a globally coordinated response to a priority neglected tropical disease: Snakebite envenoming. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 2, e0007059, 2019.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

- Descrever os aspectos clínicos, epidemiológicos, laboratoriais e métodos de diagnóstico dos envenenamentos botrópicos e sua relação com o tamanho das serpentes na região do Alto Juruá, Oeste da Amazônia Brasileira.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais dos envenenamentos com o tamanho das serpentes *Bothrops atrox* na região do Alto Juruá, Oeste da Amazônia brasileira.
- Avaliar a sensibilidade do WBCT20 na confirmação do envenenamento ofídico em um hospital do oeste da Amazônia Brasileira.

5. CAPÍTULO I – RELATIONSHIP BETWEEN SNAKE SIZE AND CLINICAL, EPIDEMIOLOGICAL AND LABORATORY ASPECTS OF *Bothrops atrox* SNAKEBITES IN THE WESTERN BRASILIAN AMAZON

Artigo publicado na Revista Toxicon

Toxicon 186 (2020) 160–167



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Toxicon

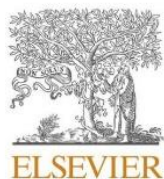
journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/toxicon>



Relationship between snake size and clinical, epidemiological and laboratory aspects of *Bothrops atrox* snakebites in the Western Brazilian Amazon



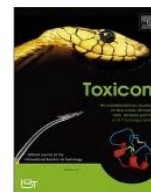
Tamires Nascimento da Costa^{a,b}, Ageane Mota-da-Silva^c, Mônica Colombini^d, Ana Maria Moura-da-Silva^d, Rodrigo Medeiros de Souza^e, Wuelton Marcelo Monteiro^{f,g}, Paulo Sérgio Bernarde^{a,b,*}



Contents lists available at ScienceDirect

Toxicon

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/toxicon>



Relationship between snake size and clinical, epidemiological and laboratory aspects of *Bothrops atrox* snakebites in the Western Brazilian Amazon

Tamires Nascimento da Costa^{a,b}, Ageane Mota-da-Silva^c, Mônica Colombini^d, Ana Maria Moura-da-Silva^d, Rodrigo Medeiros de Souza^e, Wuelton Marcelo Monteiro^{f,g}, Paulo Sérgio Bernarde^{a,b,*}

^a Laboratório de Herpetologia, Centro Multidisciplinar, Campus Floresta, Universidade Federal do Acre, Cruzeiro do Sul, AC, Brazil

^b Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental, Rio Branco, AC, Brazil

^c Instituto Federal do Acre, Campus de Cruzeiro do Sul, Cruzeiro do Sul, Acre, Brazil

^d Laboratório de Imunopatologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil

^e Laboratório de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Centro Multidisciplinar, Campus Floresta, Universidade Federal do Acre, Cruzeiro do Sul, AC, Brazil

^f Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, AM, Brazil

^g Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Manaus, AM, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Snake bites
Bothrops
Envenomation
Brazil

ABSTRACT

In the Brazilian Amazon, snakebites are a significant problem, especially for populations in rural areas, particularly in forests, where victims are a considerable distance from hospital care. Several factors are associated with the severity of the accident, such as the size and age of the snake. This study aims to compare the clinical, epidemiological and laboratory aspects of envenomation to the size of *Bothrops atrox* snakes. Clinical, epidemiological and laboratory variables were collected from patients bitten by *B. atrox* and who were admitted to a hospital in the city of Cruzeiro do Sul (western Brazilian Amazon). When the two punctures of the teeth were present in the bite sign, the distance between these was measured. When taken to the hospital, the snake was measured; otherwise, its size was estimated via interviews with patients. In 92 cases, the size of the snake was estimated, and most of these were caused by small snakes. Bites of small snakes occur mainly on the feet, while larger specimens reach the legs or higher regions. Small snakes were associated primarily with mild and moderate snakebites, with more presence of hemorrhagic manifestations, while larger snakes were responsible for severe cases and characterized by local effects (necrosis, edema, flictena, compartment syndrome, and infection) and patients were treated with a higher amount of antivenom and for a longer period of hospitalization. The distance of the punctures was related to the size of the snake and the severity of the local envenomation. The observation of the distance between puncture marks when present, which is correlated with the length of the specimen, as well as the estimation of the snake size by the patient, may provide more support for the health professional on the prognosis of envenomation. The use of boots in activities in rural areas and forests could contribute to a lower rate of cases of snakebites, and health education on preventive measures and first aid for populations is fundamental.

1. Introduction

Snakebites represent a health problem in many regions of the planet, including Latin America (Malaque and Gutiérrez, 2016), are also considered a neglected tropical disease by the World Health

Organization (Chippaux, 2017). In the Brazilian Amazon, ophidism is a major problem, especially for populations in rural areas, particularly those who work in forests (Pierini et al., 1996; Waldez and Vogt, 2009; Mota-da-Silva et al., 2019a). Very often, these populations have to travel great distances to reach hospital care, which is usually located in large

* Corresponding author. Laboratório de Herpetologia, Campus Floresta, Universidade Federal do Acre, Estrada do Canela Fina S/N, 69.980-000, Cruzeiro do Sul, Acre, Brazil.

E-mail address: snakebernarde@hotmail.com (P.S. Bernarde).

<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.08.010>

Received 17 June 2020; Received in revised form 7 August 2020; Accepted 12 August 2020

Available online 19 August 2020

0041-0101/© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

urban centers. In some regions, such as Alto Juruá, a high prevalence of snakebites was observed in populations of rural areas, such as farmers and their families and those who work in forests - extractivists, riverine and indigenous populations (Pierini et al., 1996; Mota-da-Silva et al., 2019a). Since the state of Amazonas has such a large these conditions, it also presents one of the largest incidences of snakebite in the world, which represents a challenge for future investigations, including new approaches for estimating underreporting, as well as factors related to severity and disability (Feitosa et al., 2015).

Several aspects are associated with the severity of the snakebite (France and Malaque, 2009), among which are the factors related to the snake (length and age), snake species, anatomical region where the bite occurred, weight and age of the patient, the time elapsed between the accident and serotherapy, and quality of care (Roodt et al., 2016). Among individuals of the same species, larger snakes have larger amounts of venom in their glands (Roodt et al., 2016), therefore there is a normally a relationship between the size of the snake causing the envenomation with the severity of the accident (Janes et al., 2010; Corbit et al., 2016; Hayes et al., 2017). In some species, juveniles present venom with a different composition from adults, possibly due to ontogenetic changes in eating habits, competition and predation pressure (He et al., 2014). This is also the case for some species of *Bothrops* (e.g., *B. jararaca*, *B. jararacussu* and *B. moojeni*) since there differences between juvenile and adult venoms (Furtado et al., 1991; Andrade et al., 1996), and is also probably due to ontogenetic changes in diet, which is characterized by a preference for ectothermic prey (centipedes, amphibians and lizards) when young, then later in their development, a preference for rodents (Sazima, 1992; Oliveira; Martins, 2001). These differences in venom composition are reflected in the signs and symptoms in envenomations, and patients bitten by juveniles more often present blood incoagulability, and those bitten by adults have a higher occurrence of necrosis and other complications (Kouyoumdjian and Polizelli, 1989; Ribeiro and Jorge, 1999; Milini Jr. et al., 1997; Bernal et al., 2019).

The *Bothrops atrox* is the most abundant venomous species and main cause of snakebites in the Amazon (Pardal et al., 2004; Roriz et al., 2018; Mota-da-Silva et al., 2019a). Several studies show that this snake has a generalist diet, consuming centipedes, anurans amphibians, lizards and mammals, presenting an ontogenetic change from ectothermic to endothermic prey (Martins and Oliveira, 1998; Bisneto and Kaefer, 2019). Ontogenetic changes were also observed in relation to habitat use, with adults found more frequently on the ground and juveniles on vegetation at heights up to 1.5 m (Oliveira and Martins, 2001; Turci et al., 2009), which is probably due to the increased availability of prey and the pressure of predators.

Differences in venom between juveniles and adults of this species of snake have already been observed by some authors (López-Lozano et al., 2002; Saldarriaga et al., 2003; Guércio et al., 2006), notably in snake populations more to the north in South America (Núñez et al., 2009), but not so pronounced in the populations of the Brazilian Amazon (Calvete et al., 2011). These data suggest that envenomations by this species are also characterized by different symptoms in patients according to the size of the snake. In fact, patients bitten by the juveniles of *B. atrox* also present blood incoagulability more frequently, and those bitten by adults have a higher occurrence of necrosis and other complications (Bernal et al., 2019). In Alto Juruá (Acre), the population assigns the name “jararaca” to juveniles and “surucucu” to adults of this species, and they are perceived as different species of snakes (Mota-da-Silva et al., 2019b); they also differentiate the effects of bites between juveniles (more bleeding) and adults (increased likelihood of necrosis) (Silva et al., 2020). This study aims to compare the clinical, epidemiological and laboratory aspects of envenomations to the size of *Bothrops atrox* snakes in the region of Alto Juruá, western Brazilian Amazon.

2. Methods

The data of this study were collected during the period of one year (July 1st, 2017 to June 30th, 2018) during research conducted by Mota-da-Silva et al. (2019a; 2020) on epidemiology and clinical aspects of snakebites at the Juruá Regional Hospital, located in the city of Cruzeiro do Sul, Acre. The hospital regularly handles cases of snakebites coming from the Alto Juruá region, which includes municipalities of Cruzeiro do Sul, Máncio Lima and Rodrigues Alves in the state of Acre and Guajará in the state of Amazonas (Fig. 1). The region has a total population of 142,961 inhabitants (IBGE, 2019) and is located in the western Brazilian Amazon.

The bites that were caused by the snake *Bothrops atrox* were identified from clinical diagnosis and epidemiological surveillance of the signs and symptoms that the patient presented on hospital admission, and laboratory tests cases were classified as probable cases. When it was taken to the hospital, or was photographed, the recognition of the same by either the patient or a companion who has seen the animal, and by antigenemia, cases were classified as documented cases (see methodology for detail on Mota-da-Silva et al., 2019a, 2020).

Immuno-enzymatic assays (ELISA) were used to identify and quantify circulating *Bothrops atrox* or *Lachesis muta* venoms in serum samples according to Pardal et al. (2004) using serum samples from the patients collected before the antivenom therapy. Venom toxins present in the samples were collected with Bothrops-Lachesis antivenoms coated on ELISA plates. Plates were then incubated with a second antibody generated in rabbits against *B. atrox* venom or a specific mouse monoclonal antibody anti-*Lachesis muta* venom (Colombini et al., 2001) for reaction with bound toxins. This step was followed by incubation with anti-rabbit or anti-mouse IgG-peroxidase conjugates. Reactions were revealed by addition of the enzyme substrates (OPD plus H₂O₂), and recorded at 492 nm. Values were calculated using standard curves with known concentrations of *B. atrox* or *L. muta* venoms. The cut-off level corresponded to the mean plus 2 S.D. values of negative samples obtained from volunteer donors who were accompanying the patients.

The snakes, when taken to the hospital, were identified using the identification guide by Bernarde et al. (2017) and their size was obtained with the help of a tape measure. When two fang punctures were present in the bite mark, the distance between them was measured with the aid of a digital caliper or ruler to verify the correlation with the size of the snake. The patient's bite height was measured using a tape measure. During the interview, the size of the snake was discussed and was estimated with the use of a tape measure. This methodology has the limitation that the sizes reported by the interviewees may not reflect the actual size of the snake, since most of them are based on a posteriori evaluation rather than actual measurements on each specimen. However, the sizes of the snakes that were brought to the hospital (small: 60%, medium: 30%, large 10%) was similar to the sizes estimated by the victims, which creates more confidence in the reliability of the results of the interviews (Mota-da-Silva et al., 2019a).

The clinical data of the manifestations that the victims presented and laboratory data (blood count) were obtained from the observation of patients and medical records. The 20-min blood coagulation test (WBCT20) and the Lee-White coagulation time (LWCT) were performed to aid the confirmation of the envenomation. WBCT20 was performed with blood collected prior to the administration of antivenom. For this purpose, 2 mL of venous blood was placed in a clean, new and dry glass test tube, which was left upright and motionless at room temperature for 20 min. The tube was gently tilted to assess the change in blood status: liquid (not coagulated) or semi-solid (coagulated) (Warrell et al., 1986). The LWCT was performed by the hospital laboratory by collecting venous blood, with immediate addition in two tubes of 1 mL, each. The tubes were placed in a water bath at 37 °C for 5 min. The time was recorded from the moment when the blood appeared in the syringe. After 5 min, it was checked to see if there was the formation of the clot by tilting the tube to 90°. The time of clot formation indicated the time

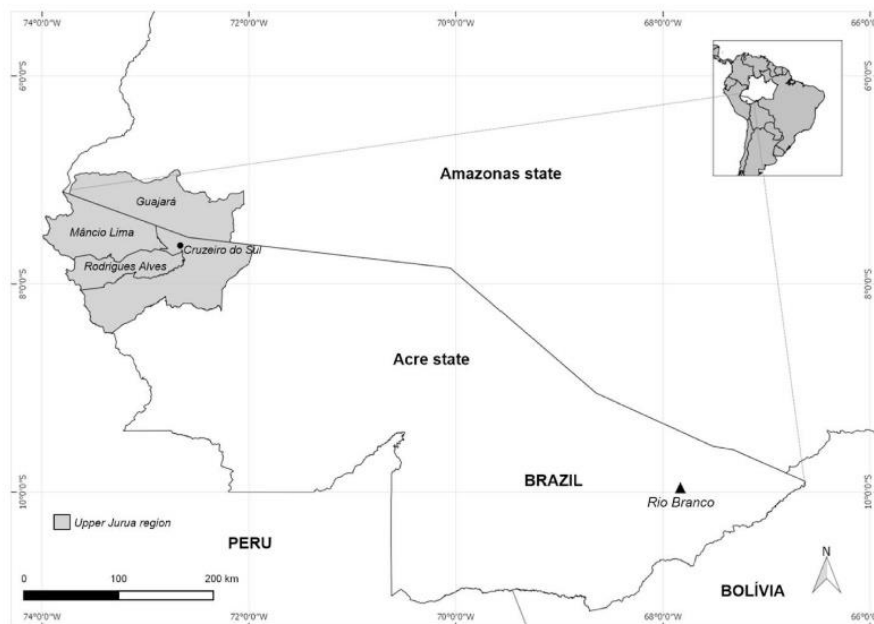


Fig. 1. Location of the Alto Juruá region in the western Brazilian Amazon.

of coagulation of whole blood (Lee and White, 1913).

The snakes reported by patients were separated into three groups according to size: small (up to 50 cm), medium (51 up to 100 cm) and large (larger than 100 cm), in accordance with Mota-da-Silva et al. (2019a). Among these three size groups we compared the gender of the victim, the area of occurrence, type of environment, time of day, seasonality, and anatomical region of the bite, time of bite, the presence of two punctures, distance between punctures, antigenemia, signs, symptoms, and local and systemic complications presented by the patient, laboratory tests (LWCT, WBCT20, white blood cells, platelets, and creatinine levels), severity, and length of time between the accident and the delivery of care, and length of hospital stay. Statistical analysis was performed using SPSS software version 25.0. First, the Kolmogorov-Smirnov test was performed (Vieira, 2008) to verify normality. Pearson's chi-square test was applied to categorical variables. Spearman's correlation was used to evaluate the relationship between snake size and height of the bite on the body, distance between punctures and the number of ampoules of antivenom used. Pearson's correlation was used to correlate snake size with antigenemia and length of stay. A significance level of $p < 0.05$ was adopted for the tests.

This research is part of the project "Venomous snakes and Snakebites in Cruzeiro do Sul and Region, State of Acre" approved by the Ethics Committee in Research with Human Beings at the Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (Approval N° 2.084.630).

3. Results

In 92 cases of *Bothrops atrox* snakebite, the patient either saw the snake or took it to the hospital, and thus made it possible to evaluate the relationship of size with other variables (Table 1; Figs. 2 and 3). Forty-nine snakebites (53.3%) were caused by small snakes, 30 (32.6%) by medium snakes and 13 (14.1%) by large snakes. Only eight specimens of *B. atrox* were taken to the hospital. The smallest was 25 cm long and had 6 g of mass, while the largest measured 165 cm and 1.1 kg.

A total of eighty-seven cases (94.6%) occurred in rural areas and only five (5.4%) in urban areas. In both areas, most cases were attributed to small snakes. There was no significant difference between the size of the snakes and the area of occurrence (Chi-square = 1.715, $p = 0.424$). In all types of environments (forests, backyards, swamps, river banks and

creeks, roads, pasture areas), small snakes predominated.

As for the period of the day, most cases occurred during the daytime ($n = 62$, 67.4%) and 30 (32.6%) at night, in both periods there was a predominance of envenomation by small snakes. There was no significant difference between the size of the snake and the period of the day (Chi-square = 2.696, $p = 0.260$). Regarding seasonality, 59 (64.1%) cases occurred in the rainy season (November to April) and 33 (35.9%) in the dry season (May to October) (Fig. 4). During the rainy period, there was a greater number of snakebites by smaller snakes, while in the dry season the medium-sized specimens were mainly involved, presenting a significant difference between the sizes of snakes by the seasons (Chi-square = 6.037, $p = 0.049$).

Most cases were classified as mild (52.2%), followed by moderate (35.9%) and severe (12%). The mild and moderate cases were caused mainly by small snakes and the severe ones were associated with large snakes. There was a significant difference between the size of the snake and the severity of the accident (Chi-square = 23.363, $p < 0.0001$). Antigenemia was performed in 67 suspected cases and 21 were confirmed for *B. atrox*, proportionally the positivity was higher in envenomations by large snakes (75%). Antigenemia was correlated with snake size (Spearman = 0.352, $p = 0.003$). Marks of two punctures were more evident in snakes of larger sizes (92.3%), while the presence of only one puncture was greater in small snakes (20.4%). There was a significant difference between the presence of two puncture marks and the size of the snakes (Chi-square = 16.118, $p = 0.0001$). The distance between punctures was measured in 39 patients and had a positive correlation with snake size (Pearson = 0.705, $p < 0.0001$) (Fig. 3).

The anatomical region most affected by small snakes was that of the feet (85.7%), while large snakes bit more in the legs (84.6%). In relation to the height of the bites, the snakes of medium and large size reached higher heights on the body of the victim ($\bar{X} = 25.1$ cm and $\bar{X} = 24.4$ cm, respectively in relation to the small snakes ($\bar{X} = 3.5$ cm), thus presenting a significant correlation between the size of the snakes and the height of the bite (Spearman = 0.369, $p = 0.008$).

Leukocytosis was present in 44 (59.5%) of the cases and most of these were observed in envenomations by large snakes (80%). However, there was no significant difference between the size of the snake and the presence of leukocytosis (Chi-square = 3.540, $p = 0.170$). Thrombocytopenia was observed in 22 (26.5%) of the victims, most of them with

Table 1

Relationship between snake size (n = 92) and clinical, epidemiological and laboratory variables of *Bothrops atrox* envenomations in the Juruá Regional Hospital, in the municipality of Cruzeiro do Sul in the Alto Juruá region.

VARIABLES	SMALL SNAKES (up to 50 cm)	MEDIUM SNAKES (51–100 cm)	LARGE SNAKES (>100 cm)
Number of cases (92)	49 (53.3%)	30 (32.6%)	13 (14.1%)
Antigenemia (67) - Values ng/ ml	38 (X ⁻ = 14.9 ng/ml)	21 (X ⁻ = 28.3 ng/ml)	8 (X ⁻ = 66.4 ng/ml)
Antigenemia (21) - positive tests	8 (21.1%)	7 (33.3%)	6 (75%)
Snake size (92)	49 (20–50 cm; X ⁻ = 35.5 cm)	30 (51–100 cm; X ⁻ = 81 cm)	13 (115–165 cm; X ⁻ = 137.7 cm)
Distance between fang marks (39)	15 (9–30 mm; X ⁻ = 11.8 mm)	12 (10–30 mm; X ⁻ = 20.8 mm)	12 (20–35 mm; X ⁻ = 26.9 mm)
Presence of two punctures (39)	15 (30.6%)	12 (40%)	12 (92.3%)
Presence of one puncture (19)	10 (20.4%)	8 (26.7%)	1 (7.7%)
Absence of punctures (34)	24 (49%)	10 (33.3%)	0
Height of the bite (51)	42 (X ⁻ = 3.5 cm)	5 (X ⁻ = 25.1 cm)	4 (X ⁻ = 24.4 cm)
Height of the bite (51)	42 (85.7%)	5 (16.7%)	4 (30.8%)
AREA OF OCCURRENCE (92)			
Rural (87)	45 (91.8%)	29 (96.7%)	13 (100%)
Urban (5)	4 (8.2%)	1 (3.3%)	0
TYPE OF ENVIRONMENT (92)			
River bank/Stream(17)	8 (16.3%)	5 (16.7%)	4 (30.8%)
Weir bank (2)	1 (2%)	1 (3.3%)	0
Flooded forest lake (1)	0	1 (3.3%)	0
Plantation (18)	9 (18.4%)	8 (26.7%)	1 (7.7%)
Yard (20)	13 (26.5%)	6 (20%)	1 (7.7%)
Grassland (5)	4 (8.2%)	1 (3.3%)	0
Home (1)	1 (2%)	0	0
Highway (6)	5 (10.2%)	1 (3.3%)	0
Well (2)	1 (2%)	1 (3.3%)	0
Forest (20)	7 (14.3%)	6 (20%)	7 (53.8%)
PERIOD OF THE YEAR (92)			
Rainy season (59)	35 (71.4%)	14 (46.7%)	10 (76.9%)
Dry season (33)	14 (28.6%)	16 (53.3%)	3 (23.1%)
PERIOD OF THE DAY (92)			
Daytime (62)	30 (61.2%)	21 (70%)	11 (84.6%)
Nighttime (30)	19 (38.8%)	9 (30%)	2 (15.4%)
ANATOMICAL REGION (92)			
Foot (62)	42 (85.7%)	19 (63.3%)	1 (7.7%)
Leg (19)	0	8 (26.7%)	11 (84.6%)
Trunk (1)	0	1 (3.3%)	0
Hand (10)	7 (14.3%)	2 (6.7%)	1 (7.7%)
GENDER (92)			
Male (76)	41 (83.7%)	24 (80%)	11 (84.6%)
Female (16)	8 (16.3%)	6 (20%)	2 (15.4%)
SEVERITY (92)			
Mild (48)	33 (67.3%)	12 (40%)	3 (23.1%)
Moderate (33)	15 (30.6%)	14 (46.7%)	4 (30.8%)
Serious (11)	1 (2%)	4 (13.3%)	6 (46.2%)
LOCAL MANIFESTATIONS AND COMPLICATIONS (92)			
Pain (82)	43 (87.8%)	26 (86.7%)	13 (100%)
Local bleeding (3)	1 (2%)	1 (3.3%)	1 (7.7%)
Edema (83)	42 (85.7%)	28 (93.3%)	13 (100%)
Bruising (6)	4 (8.2%)	2 (6.7%)	0
Blisters (9)	3 (6.1%)	3 (10%)	3 (23.1%)
Erysipelas (1)	0	1 (3.3%)	0
Necrosis (2)	0	0	2 (15.4%)
Local infection (9)	2 (4.1%)	4 (13.3%)	3 (23.1%)
Secondary infection (1)	0	1 (3.3%)	0
Compartment syndrome (1)	0	1 (3.3%)	0
SYSTEMIC MANIFESTATIONS AND COMPLICATIONS (92)			
Bleeding (21)	12 (24.5%)	7 (23.3%)	2 (15.4%)
Acute Renal Failure (4)	2 (4.1%)	1 (3.3%)	1 (7.7%)
Dyspnea (1)	0	0	1 (7.7%)
Headache (26)	19 (38.8%)	7 (23.3%)	0
Lipothymia (2)	0	1 (3.3%)	1 (7.7%)
Vomiting (12)	6 (12.2%)	3 (10%)	3 (23.1%)
Lymphonodomegaly (5)	4 (8.2%)	1 (3.3%)	0

Table 1 (continued)

VARIABLES	SMALL SNAKES (up to 50 cm)	MEDIUM SNAKES (51–100 cm)	LARGE SNAKES (>100 cm)
Hypotension (2)	0	1 (3.3%)	1 (7.7%)
Hypertension (3)	1 (2%)	1 (3.3%)	1 (7.7%)
Hemorrhagic stroke (1)	1 (2%)	0	0
BLOOD COUNT-LEUKOCYTES (74)	38 (77.6%)	26 (86.7%)	10 (76.9%)
Leukocytosis - Yes (44)	19 (50%)	17 (65.4%)	8 (80%)
Leukocytosis - No (30)	19 (50%)	9 (34.6%)	2 (20%)
BLOOD COUNT - PLATELETS (83)	45 (91.8%)	27 (90%)	11 (84.6%)
Thrombocytopenia - Yes (22)	11 (24.4%)	5 (18.5%)	6 (54.5%)
Thrombocytopenia - No (61)	34 (75.6%)	22 (81.5%)	5 (45.5%)
CREATININE (55)	25 (51%)	21 (70%)	9 (69.2%)
Creatinine - Normal (49)	22 (88%)	19 (90.5%)	8 (88.9%)
Creatinine - Abnormal (6)	3 (12%)	2 (9.5%)	1 (11.1%)
LWCT (84)	46 (93.9%)	27 (90%)	11 (84.6%)
Normal (15)	9 (19.6%)	6 (22.2%)	0
Prolonged (57)	32 (69.6%)	17 (63%)	8 (72.7%)
Uncloable (12)	5 (10.9%)	4 (14.8%)	3 (27.3%)
WBCT20 (74)	41 (83.7%)	24 (80%)	9 (69.2%)
Normal (26)	12 (29.3%)	11 (45.8%)	3 (33.3%)
Uncloable (48)	29 (70.7%)	13 (54.2%)	6 (66.7%)
ANTIVENOM THERAPY (80)	44 (89.8%)	26 (86.7%)	10 (76.9%)
1–4 ampoules	23 (52.3%)	4 (15.4%)	0
5–9 ampoules	18 (40.9%)	17 (65.4%)	5 (50%)
10 or more ampoules	3 (6.8%)	5 (19.2%)	5 (50%)
TOTAL NUMBER OF AMPOULES IN ANTIVENOM THERAPY	227 (2–14; X ⁻ = 5.2)	187 (3–14; X ⁻ = 7.2)	93 (6–12; X ⁻ = 9.3)
LENGTH OF STAY IN HOSPITAL (53)	28 (57.1%)	17 (56.7%)	8 (61.5%)
Up to 1 day (15)	10 (35.7%)	4 (23.5%)	1 (12.5%)
Up to 1 week (33)	17 (60.7%)	9 (52.9%)	7 (87.5%)
More than 1 week (4)	1 (3.6%)	3 (17.6%)	0

large snakes (54.5%). There was no significant difference between snake size and thrombocytopenia (Chi-square = 5.422, $p = 0.066$). Examination of creatinine level was performed in 55 cases and alteration was observed in only six (10.9%) patients, most involved small snakes (12%). There was no significant difference between snake size and creatinine level (Chi-square = 0.072, $p = 0.964$).

The LWCT was performed in 84 patients in which 57 (67.9%) were considered prolonged and 12 (14.3%) incoagulable, the latter being more frequent in bites by large snakes (27.3%). There was no significant difference between snake size and coagulation time change (Chi-square = 4.161, $p = 0.385$). Another parameter used was the WBCT20, in this case 74 victims performed the test and in 48 (64.9%) presented incoagulable blood, showing no significant difference between snake size and blood incoagulability (Chi-square = 1.837, $p = 0.399$).

The amount of ampoules used correlated with the size of the snakes (Spearman = 0.405, $p < 0.0001$), and the mean number of ampoules administered was higher in envenomations with large snakes (X⁻ = 9.3). Although snake size and length of stay in hospital did not correlate (Spearman = 0.234, $p = 0.092$), the mean length of stay was 3.3 days and the cases with longer length of stay were attributed to bites by medium-sized snakes.

4. Discussion

The *Bothrops atrox* is the most abundant venomous snake in the Amazon compared to other species, due to its generalist characteristic in terms of food and habitat (Oliveira and Martins, 2001; Bisneto and Kaefer, 2019). This fact is also confirmed for the Alto Juruá region by Pierini et al. (1996) and Mota-da-Silva et al. (2019a) and other studies conducted in other regions in this biome (e. g., Pardo et al., 2004; Waldez and Vogt, 2009; Roriz et al., 2018). It follows that, due to the abundance of *B. atrox* in this biome, there is a higher incidence of envenomations caused by this species. Small specimens are the main



Fig. 2. A) Small specimen (29 cm) of *Bothrops atrox*; B) Medium specimen (90 cm) of *B. atrox*; C) large specimen (165 cm) of *B. atrox*; D) Puncture marks (9.9 mm) caused by small snake (30 cm); E) Puncture marks (21.6 mm) caused by medium snake (100 cm); F) Puncture marks (29.1 mm) caused by large snake (150 cm); G) Puncture marks (30 mm) caused by large snake (150 cm); H) Distance between fangs (10 mm) of a small snake (28 cm); I) Distance between fangs (30 mm) of a large snake (165 cm); J) Intense edema and puncture marks (3 cm) in leg of a patient bitten by a large snake (165 cm); K) Edema and ecchymosis in patient bitten by a medium snake (90 cm); L) Necrosis in leg of patient bitten by a large snake (150 cm); M) Living small specimen (approximately 30 cm) of *B. atrox*; N) Living medium specimen (approximately 70 cm) of *B. atrox*; O) Living large specimen (approximately 120 cm) of *B. atrox*.

causes of envenomations in the region because they are more abundant and harder to be seen by people (Mota-da-Silva et al., 2019a). The diversity of the environments where the envenomations occurred confirms the abundance of *Bothrops atrox* snake, especially small specimens, as observed by other authors (Oliveira and Martins, 2001; Turci et al., 2009). According to Silva et al. (2020), the population of Alto Juruá considers this species as the most feared among those occurring in the region, due to the high incidence, severity and mortality of cases.

It is during the rainy period that most of the evenomations occur in the Amazon (Waldez and Vogt, 2009; Ferreira et al., 2020) and this follows for the Alto Juruá region (Mota-da-Silva et al., 2019a, 2020). It is

associated with factors such as increased activity of snakes and availability of their prey, period of birth of their offspring and also human activities in rural areas and forests. During the rainy season the cases involved mainly small snakes and in the dry season the medium-sized ones. These data confirm the results of other authors, who indicate that, in the rainy season, small snakes are more abundant due to the birth of the offspring, which also coincides with the period of greater availability of anurans that make up the diet of these animals (Oliveira and Martins, 2001; Turci et al., 2009; Bisneto and Kaefer, 2019).

Envenomations that are more severe are usually related to larger snakes (Corbit et al., 2016; Hayes et al., 2017) due mainly to the greater

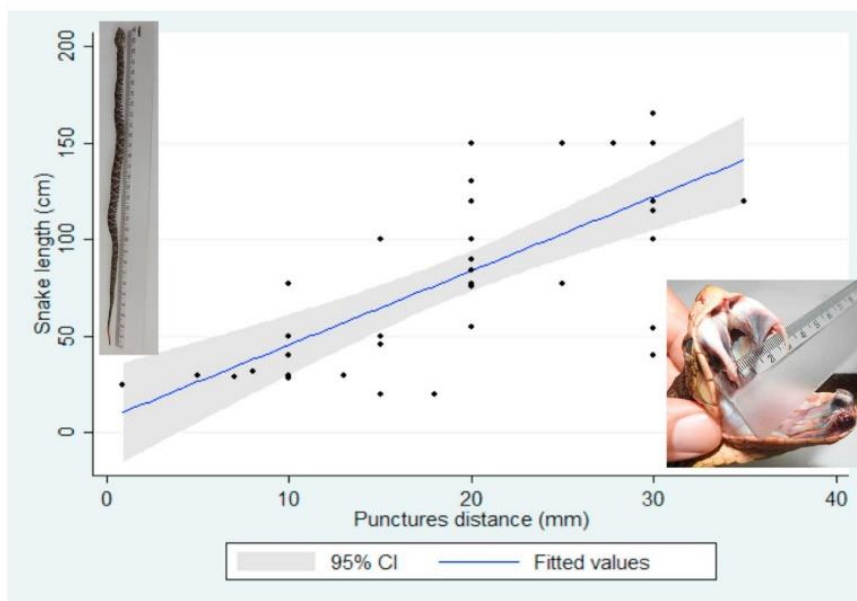


Fig. 3. Relationship between the distance of punctures in bites and the length of snakes in envenomations by *Bothrops atrox* in the Alto Juruá region, western Brazilian Amazon.

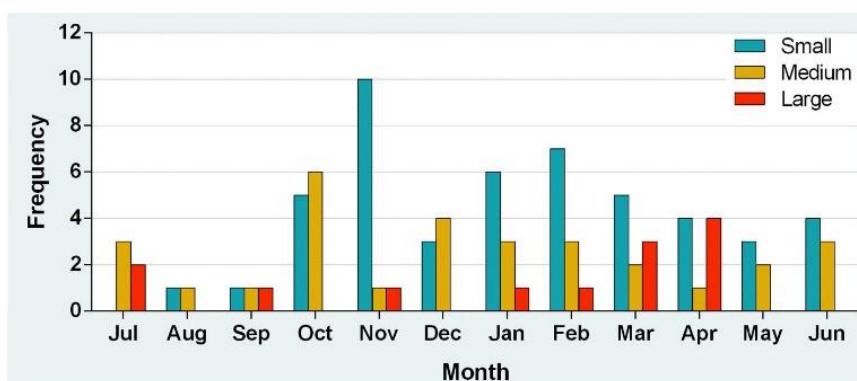


Fig. 4. Distribution of the frequency of cases categorized by snake size in the months from July 2018 to June 2019 in the Alto Juruá region (western Brazilian Amazon).

amount of venom inoculated during the bite. In this study, small snakes were mainly related to mild and moderate cases, while severe cases were associated with large snakes. This is due to the lesser amount of venom present in smaller snakes and, in the case of *Bothrops* species, the tendency of envenomation when caused by juvenile specimens to cause more coagulopathy, while adult individuals cause more local effects (edema, necrosis, flictenas, abscesses) (Kouyoumdjian; Polizelli, 1989; Ribeiro; Jorge, 1990; Milani et al., 1997; Bernal et al., 2019). Positive antigenemia was associated mainly with large snakes, probably due to a greater amount of venom that can be inoculated by larger individuals (Hayes et al., 2002; Roodt et al., 2016) and thus increases the probability of detection in the blood. It is because larger snakes inject more venom that a larger volume of antivenom is required to neutralize it.

The larger snakes were able to leave two, more evident, puncture marks compared to those of smaller snakes, probably due to better efficiency in inflicting the bite (Hayes et al., 2002). As has been previously observed (Janes et al., 2010; Roodt et al., 2016; Hayes et al., 2017), we also noted a correlation between the length of the snake and the distance between the punctures, which can be a predictive factor of the severity of the accident and help in estimating the size of the snake in small

(puncture distance between 0.9 and 30 mm; $\bar{X} = 1.8$ mm), medium (10–30 mm; $\bar{X} = 20.8$ mm) and large (20–35 mm; $\bar{X} = 26.9$ mm). The presence of punctures can also help the health professional in the diagnosis of the snakebite, ruling out the possibility of non-venomous snake bite that usually causes an abrasive injury and thus exempting the use of antivenom (Nishioka et al., 1995; Mota-da-Silva et al., 2019c). However, marks of two punctures are not always evident, having been recorded only in 46% of the cases in the study by Nishioka et al. (1995) and 42.4% in this study. It should be noted that some non-venomous snakes may eventually cause puncture marks during the bite (Nishioka et al., 1995; Mota-da-Silva et al., 2019c), and it is always necessary for health professionals to consider clinical and laboratory signs as the primary form in the diagnosis of a snakebite. Nishioka et al. (1995) observed only one puncture mark in 36% of cases. In our study, this was observed in 20.6% of cases, and in this situation it is not possible to estimate the size of the causative snake.

We observed a significant correlation between the length of the snake and height of bite, since the snakebites caused by small specimens occurred mainly to the feet, while the larger snakes, however, mostly to the legs, the pattern is also seen in the snakebites caused by *Bothrops*

jararaca (Ribeiro and Jorge, 1990), and *B. moojeni* (Kouyoumdjian and Polizelli, 1989), in the state of São Paulo, in the Southeast region of Brazil. Many victims often do not use personal protective equipment such as boots when walking or working in the field (Roriz et al., 2018; Mota-da-Silva et al., 2019a), which increases vulnerability to the snakebites. The highest height of a bite recorded in this study was 36 cm. This reinforces the deduction of Waldez and Vogt (2009) that 40 cm high rubber boots could avoid most of the bites in the lower limbs. Despite this, specimens of *B. atrox* larger than 42 cm can pierce the boot and large individuals (150 cm) can bite above the height of the boot (Mota-da-Silva et al., 2019a).

In *Bothrops* envenomations, patients bitten by juvenile snakes tend to develop coagulation changes, while in those bitten by adult specimens, local effects (necrosis, intense edema and blisters) are more evident (Kouyoumdjian and Polizelli, 1989; Ribeiro and Jorge, 1990; Milini Jr. et al., 1997; Bernal et al., 2019). In this study, this trend was confirmed, and, proportionally, the patients bitten by larger snakes had more pronounced local effects, while hemorrhagic manifestations and ecchymosis were more present in the victims of envenomations by small and medium snakes. However, there was no significant difference between the size of snakes and the change in blood clotting time. Although bleeding is more common in individuals with blood incoagulability on hospital admission, the occurrence of hemorrhagic phenomena in *Bothrops* envenomations even in individuals with normal clotting times is possible (Oliveira et al., 2018).

The literature presents a large number of studies that characterize clinical cases of envenomations, however there are few studies that include the results of laboratory tests (e. g., biochemical parameters of blood cell count, urea, creatinine) done at the time of admission of the patient and after antivenom therapy (Roriz et al., 2018), and this study was limited by the medical decision to perform such exams. Laboratory tests (leukocytosis, thrombocytopenia and creatinine) showed no significant difference between different snake sizes, however, leukocytosis and thrombocytopenia were more often observed in patients bitten by large snake specimens. Animal studies have shown evolution of leukocyte flow at the site of envenomations by *B. atrox* with the gradual increase in the number of leukocytes up to 8 h after the bite (Moreira et al., 2012). This leukocyte recruitment is related to the endocrine-metabolic response to trauma (Almeida et al., 2020). The thrombocytopenia recorded in 26% of patients was higher than that observed in other studies in the Amazon; in Manaus, Amazonas, it was recorded in 8.7% of cases (Oliveira et al., 2019) and in Belém, Pará, it was recorded in 12.1% of the envenomations (Pardal et al., 2004). The creatinine used to evaluate renal function was detected as being altered in only 10.9% of the patients, however it is interesting to note that of the 92 victims, only 55 underwent this examination and, as Albuquerque et al. (2019) explain, acute renal failure may be asymptomatic.

The average length of hospitalization was 3.3 days, higher than that reported by Moreno et al. (2005) in the Acre state capital, Rio Branco, which was a maximum of 44.7 h. This data could be used to analyze the economic impacts of ophidism and its financial burden to the unified health system (SUS) (González-Andrade and Chippaux, 2010). The hospitalization time of victims of *Bothrops* envenomations when bitten by larger snakes is usually longer than for small ones, since manifestations with abscesses and necrosis usually take longer to treat (Kouyoumdjian and Polizelli, 1989; Ribeiro and Jorge, 1990). Although no significant correlation was observed between snake size's and length of stay in hospital, the longest time recorded was in the cases of patients bitten by medium-sized snakes. In *Bothrops* envenomations, there is a tendency to use a greater amount of antivenom in patients bitten by large snakes (Kouyoumdjian and Polizelli, 1989; Ribeiro and Jorge, 1990), which was also observed during this study.

5. Conclusion

Most snakebites by *Bothrops atrox* are caused by juvenile individuals

(smaller than 50 cm in length), occur in various types of environments, and mainly during the rainy season. The bites of small snakes occur mainly to the feet, while larger specimens reach higher heights such as the legs, indicating that the use of boots in activities in rural areas could contribute to lowering incidence of cases of snakebites. Small snakes are associated mainly with mild and moderate snakebites, with more presence of hemorrhagic manifestations, while larger snakes are responsible for severe cases and characterized by local effects (necrosis, edema, flectena, compartment syndrome and infection). The size of the snake can be estimated by interviewing the patient and also by observing the distance between the marks of the punctures when present, which is correlated with the length of the specimen and thus the health professional can have more subsidies on the prognosis of envenomation and the amount of ampoules that will be needed.

Gutiérrez (2014) points out some challenges to reducing mortality caused by snakebites in Central America that are also faced in Brazil with regard to the production of sufficient serum and its adequate distribution according to the areas of greatest vulnerability. It is also important to improve the knowledge of health professionals in the identification of distinct symptoms and signs according to the envenomation, the proper use of antivenom in terms of type, and quantity of ampoules. All these aspects can be improved through an annual and mandatory training policy on the subject in Brazil. Health education on the use of equipment in certain activities (boots and gloves) and first aid is also important for the prevention of snakebites and also the reduction of inappropriate attitudes (e.g., tourniquet, incision, suction).

Authorship Contribution Statement

Tamires Nascimento da Costa: Conceptualization, Acquisition of data, Formal analysis, Data curation, Writing - original draft, Writing - review & editing. **Ageane Mota-da-Silva:** Conceptualization, Acquisition of data, Formal analysis, Data curation, Writing - review & editing. **Mônica Colombini:** Conceptualization, Formal analysis, Data curation, Writing - review & editing. **Ana Maria Moura-da-Silva:** Conceptualization, Formal analysis, Data curation, Writing - review & editing. **Rodrigo Medeiros de Souza:** Conceptualization, Formal analysis, Data curation, Writing - review & editing. **Wuelton Marcelo Monteiro:** Conceptualization, Formal analysis, Data curation, Writing - review & editing. **Paulo Sérgio Bernarde:** Conceptualization, Formal analysis, Data curation, Writing - original draft, Writing - review & editing.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

We are grateful to the directors of the Juruá Regional Hospital of Cruzeiro do Sul for their permission for this research and the entire team of doctors, nurses, nursing assistants, and other hospital staff for their support of this study.

References

- Albuquerque, P.L.M.M., Silva Jr., G.B., Meneses, G.C., Martins, A.M.C., Lima, D.B., Raubenheimer, J., et al., 2019. Acute kidney injury induced by *Bothrops* venom: insights into the pathogenic mechanisms. *Toxins* 11, 148. <https://doi.org/10.3390/toxins11030148>.
- Almeida, M.T., Freitas de Sousa, L.A., Colombini, M., Gimenes, S.N.C., Kitano, E.S., Faquim Mauro, E.L., et al., 2020. Inflammatory reaction induced by two metalloproteinases isolated from the hydrolysis of basement membrane components. *Toxins (Basel)* 12, E96. <https://doi.org/10.3390/toxins12020096>.
- Andrade, D.V., Abe, A.S., Santos, M.C.S., 1996. Is the venom related to diet and tail color during *Bothrops moojeni* ontogeny? *J. Herpetol.* 30, 285–288. <https://doi.org/10.2307/1565528>.

- Bernal, J.C.C., Bisneto, P.F., Pereira, J.P.T., Ibiapina, H.N.S., Sarraff, L.K.S., Monteiro Júnior, C., et al., 2019. "Bad things come in small packages": predicting venom-induced coagulopathy in *Bothrops atrox* bites using snake ontogenetic parameters. *Clin. Toxicol.* 58, 388–396. <https://doi.org/10.1080/15563650.2019.1648817>.
- Bernarde, P.S., Turci, L.C.B., Machado, R.A., 2017. Serpentes Do Alto Juruá, Acre - Amazônia Brasileira, first ed. EDUFAC, Rio Branco.
- Bisneto, P.F., Kaeffer, I.L., 2019. Reproductive and feeding biology of the common lancehead *Bothrops atrox* (Serpentes, Viperidae) from central and southwestern Brazilian Amazonia. *Acta Amazonica* 49, 105–113. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201802371>.
- Calvete, J.J., Sanz, L., Perez, A., Borges, A., Vargas, A.M., Lomonte, B., et al., 2011. Snake population venomics and antivenomics of *Bothrops atrox*: paedomorphism along its transamazonian dispersal and implications of geographic venom variability on snakebite management. *J. Proteomics* 74, 510–527. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.01.003>.
- Chippaux, J.P., 2017. Snakebite envenomation turns again into a neglected tropical disease! *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* 23, 38. <https://doi.org/10.1186/s40409-017-0127-6>.
- Colombini, M., Fernandes, I., Cardoso, D.F., Moura-da-Silva, A.M., 2001. *Lachesis muta* mamba venom: immunological differences compared with *Bothrops atrox* venom and importance of specific antivenom therapy. *Toxicon* 39, 711–719.
- Corbit, A.G., Hayes, W.K., 2016. Factors that influence the clinical severity of venomous snakebites in Southern California. *Toxicon* 117, 106. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.04.014>.
- Feitosa, E.L., Sampaio, V.S., Salinas, J.L., Queiroz, A.M., Silva, I.M., Gomes, A.A., et al., 2015. Older age and time to medical assistance are associated with severity and mortality of snakebites in the Brazilian Amazon: a case control study. *PLoS One* 10, e0132237. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132237>.
- Ferreira, A.A.F., Reis, V.P., Boeno, C.N., Evangelista, J.R., Santana, H.M., Serrath, S.N., et al., 2020. Increase in the risk of snakebites incidence due to changes in humidity levels: a time series study in four municipalities of the state of Rondônia. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 53, e20190377. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0377-2019>.
- França, F.O.S., Málague, C.M.S., 2009. *Acidente Botrópico*. In: Cardoso, J.L.C., França, F.O.S., Wen, F.H., Málague, C.M.S., Haddad Jr., V. (Eds.), second ed., *Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes*. Sarvier, São Paulo, pp. 81–95.
- Furtado, M.F.D., Mariyama, M., Kamiguti, A.S., Antonio, L.C., 1991. Comparative study of nine *Bothrops* snake venoms from adult female snakes and their offspring. *Toxicon* 29, 219–226. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(91\)90106-2](https://doi.org/10.1016/0041-0101(91)90106-2).
- Guércio, R.A.P., Shevchenko, A., Shevchenko, A., López-Lozano, J.L., Paba, J., Sousa, M. V., et al., 2006. Ontogenetic variations in the venom proteome of the Amazonian snake *Bothrops atrox*. *Proteome Sci.* 4, 11. <https://doi.org/10.1186/1477-5956-4-11>.
- Gutiérrez, J.M., 2014. Current challenges for confronting the public health problem of snakebite envenoming in Central America. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* 20, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1678-9199-20-7>.
- Hayes, W.K., Herbert, S.S., Rehling, G.C., Gennaro, J.F., 2002. Factors that influence venom expenditure in vipers and other snake species during predatory and defensive contexts. In: Schuett, G.W., Hoggren, M., Douglas, M., Greene, H. (Eds.), *Biology of the Vipers*. Eagle Mountain Publishing, Eagle Mountain, Utah, pp. 207–233.
- Hayes, W.K., Corbit, A.G., Cardwell, M.D., Herbert, S.S., 2017. Interfang distances of rattlesnakes: sexual, interspecific, and body size-related variation, and implications for snakebite research and management. *Wilderness Environ. Med.* 28, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.wem.2017.03.006>.
- IBGE, 2019. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo demográfico. www.ibge.gov.br. (Accessed 20 April 2020).
- Janes Jr., D.N., Bush, S.P., Kolluru, G.R., 2010. Large snake size suggests increased snakebite severity in patients bitten by rattlesnakes in Southern California. *Wilderness Environ. Med.* 21, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.wem.2010.01.010>.
- Kouyoumdjian, J.A., Polizelli, C., 1989. Acidentes ofídicos causados por *Bothrops moojeni*: correlação do quadro clínico com o tamanho da serpente. *Rev. Inst. Med. Trop. SP.* 31, 84–90. <https://doi.org/10.1590/S0036-46651989000200004>.
- Lee, R.L., White, P.D., 1913. A clinical study of the coagulation time of blood. *Am. J. Med. Sci.* 145, 496–503.
- López-Lozano, J.L., Sousa, M.V., Ricart, C.A.O., Chávez-Olortegui, C., Sanchez, E.F., Muniz, E.G., et al., 2002. Ontogenetic variation of metalloproteinases and plasma coagulant activity in venoms of wild *Bothrops atrox* specimens from Amazonian rain forest. *Toxicon* 40, 997–1006. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(02\)00096-X](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(02)00096-X).
- Malague, C.M.S., Gutiérrez, J.M., 2016. Snakebite envenomation in central and South America. In: Brent, J., Burkhardt, K., Dargan, P., Hatten, B., Megarbane, B., Palmer, R. (Eds.), *Critical Care Toxicology*. Springer, Cham, pp. 1–22.
- Martins, M., Oliveira, M.E., 1998. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. *Herpetol. Nat. Hist.* 6, 78–150.
- Milani Jr., R., Jorge, M.T., de Campos, F.P., Martins, F.P., Bouso, A., Cardoso, J.L., et al., 1997. Snake bites by the jararacuçu (*Bothrops jararacussu*): clinicopathological studies of 29 proven cases in São Paulo State, Brazil. *Q. J. M.* 90, 323–334. <https://doi.org/10.1093/qjmed/90.5.323>.
- Moreira, V., Dos Santos, M.C., Nascimento, N.G., Silva, H.B., Fernandes, C.M., Lima, M. R.D., et al., 2012. Local inflammatory events induced by *Bothrops atrox* snake venom and the release of distinct classes of inflammatory mediators. *Toxicon* 60, 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.03.004>.
- Moreno, E., Queiroz Andrade, M., Lira da Silva, R.M., Tavares Neto, J., 2005. Características clínicoepidemiológicas dos acidentes ofídicos em Rio Branco, Acre. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 38, 15–21. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822005000100004>.
- Mota-da-Silva, A., Colombini, M., Moura-da-Silva, A.M., Souza, R.M., Monteiro, W.M., Bernarde, P.S., 2019a. Ethno knowledge and attitudes regarding snakebites in the Alto Juruá region, western Brazilian Amazonia. *Toxicon* 171, 66–77. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.10.238>.
- Mota-da-Silva, A., Monteiro, W.M., Bernarde, P.S., 2019b. Popular names for bushmaster (*Lachesis muta*) and lancehead (*Bothrops atrox*) snakes in the Alto Juruá region: repercussion to clinical epidemiological diagnosis and surveillance. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 52, e20180140. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0140-2018>.
- Mota-da-Silva, A., Mendes, V.K.G., Monteiro, W.M., Bernarde, P.S., 2019c. Non-venomous snakebites in the western Brazilian Amazon. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 52, e20190120. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0120-2019>.
- Mota da Silva, A., Colombini, M., Moura da Silva, A.M., Souza, R.M., Monteiro, W.M., Bernarde, P.S., 2020. Epidemiological and clinical aspects of snakebites in the upper Juruá River region, western Brazilian Amazonia. *Acta Amazonica* 50, 90–99. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201901561>.
- Nishioka, A.S., Silveira, P.V.P., Bauab, F.A., 1995. Bite marks are useful for the differential diagnosis of snakebite in Brazil. *Wilderness Environ. Med.* 6, 183–188. [https://doi.org/10.1580/1080-6032\(1995\)006\[0183:BMAUFF\]2.3.CO;2](https://doi.org/10.1580/1080-6032(1995)006[0183:BMAUFF]2.3.CO;2).
- Núñez, V., Cid, P., Sanz, L., De La Torre, P., Angulo, Y., Lomonte, B., et al., 2009. Snake venomics and antivenomics of *Bothrops atrox* venoms from Colombia and the Amazon regions of Brazil, Perú and Ecuador suggest the occurrence of geographic variation of venom phenotype by a trend towards paedomorphism. *J. Proteomics* 73, 57–78. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2009.07.013>.
- Oliveira, M.E., Martins, M., 2001. When and where to find a pitviper: activity patterns and habitat use of the lancehead, *Bothrops atrox*, in central Amazonia, Brazil. *Herpetol. Nat. Hist.* 8, 101–110.
- Oliveira, S.S., Alves, E.C., Santos, A.S., Pereira, J.P.T., Sarraff, L.K.S., Nascimento, E.F., et al., 2019. Factors associated with systemic bleeding in *bothrops* envenomation in a tertiary hospital in the Brazilian Amazon. *Toxins* 11, 22. <https://doi.org/10.3390/toxins11010022>.
- Pardal, P.P., Souza, S.M., Monteiro, M.R., Fan, H.W., Cardoso, J.L., França, F.O., et al., 2004. Clinical trial of two antivenoms for the treatment of *Bothrops* and *Lachesis* bites in the north eastern Amazon region of Brazil. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 98, 28–42. [https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(03\)00005-1](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(03)00005-1).
- Pierini, S.V., Warrell, D.A., de Paulo, A., Theakston, R.D., 1996. High incidence of bites and stings by snakes and other animals among rubber tappers and Amazonian Indians of the Juruá Valley, Acre state, Brazil. *Toxicon* 34, 225–236. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(95\)00125-5](https://doi.org/10.1016/0041-0101(95)00125-5).
- Ribeiro, L.A., Jorge, M.T., 1990. Epidemiologia e quadro clínico dos acidentes por serpentes *Bothrops jararaca* adultas e filhotes. *Rev. Inst. Med. Trop. SP.* 32, 436–442. <https://doi.org/10.1590/S0036-46651990000600008>.
- Roodt, A.R., Boyer, L.V., Lanari, L.C., Irazu, L., Laskowicz, R.D., Sabattini, P.L., et al., 2016. Venom yield and its relationship with body size and fang separation of pit vipers from Argentina. *Toxicon* 121, 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.08.013>.
- Saldarriaga, M.M., Otero, R., Núñez, V., Toro, M.F., Díaz, A., Gutiérrez, J.M., 2003. Ontogenetic variability of *Bothrops atrox* and *Bothrops asper* snake venoms from Colombia. *Toxicon* 42, 405–411. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(03\)00171-5](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(03)00171-5).
- Sazima, I., 1992. Natural history of the jararaca pitviper, *Bothrops jararaca*, in southeastern Brazil. In: Campbell, J.A., Brodie Jr., E.D. (Eds.), *Biology of the Pitvipers*. Selva, Tyler, Texas, pp. 199–216.
- Silva, J.L., Silva, A.M., Amaral, G.L.G., Ortega, G.P., Monteiro, W.M., Bernarde, P.S., 2020. The deadliest snake according to ethnobiological perception of the population of the Alto Juruá region, western Brazilian Amazonia. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 53, e20190305. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0305-2019>.
- Turci, L.C.B., Albuquerque, S., Bernarde, P.S., Miranda, D.B., 2009. Uso do hábitat, atividade e comportamento de *Bothrops bilineatus* e de *Bothrops atrox* (Serpentes: Viperidae) na floresta do Rio Moa, Acre, Brasil. *Biota Neotropica* 9, 197–206. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032009000300020>.
- Vieira, S., 2008. *Introdução a Bioestatística*, fourth ed. Elsevier, Rio de Janeiro.
- Waldez, F., Vogt, R.C., 2009. Aspectos ecológicos e epidemiológicos de acidentes ofídicos em comunidades ribeirinhas do baixo rio Purus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica* 39, 681–692. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672009000300025>.
- Warrell, D.A., Looreesuwans, S., Theakston, R.D., Phillips, R.E., Chanthavanich, P., Viravan, C., et al., 1986. Randomized comparative trial of three monospecific antivenoms for bites by the Malayan pit viper (*Calloselasma rhodostoma*) in southern Thailand: clinical and laboratory correlations. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 35, 1235–1247. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1986.35.1235>.

6. CAPÍTULO II – EFICÁCIA DO TESTE DE COAGULAÇÃO SANGUÍNEA EM 20 MINUTOS (WBCT20) NA CONFIRMAÇÃO DE ENVENENAMENTO OFÍDICO EM UM HOSPITAL NO OESTE DA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Comunicação breve submetido à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (RSBMT)



**Eficácia do teste de coagulação sanguínea em 20 minutos (WBCT20) na
confirmação de envenenamento ofídico em um hospital no oeste da
Amazônia Brasileira**

Tamires Nascimento da Costa^{[1],[2]}, *Ageane Mota da Silva*^[3], *Rodrigo Medeiros de
Souza*^[4], *Wuelton Marcelo Monteiro*^{[5],[6]}, *Paulo Sérgio Bernarde*^{[1],[2]*}

^[1] Universidade Federal do Acre, Campus Floresta, Centro Multidisciplinar, Laboratório de Herpetologia, Cruzeiro do Sul, AC, Brasil.

^[2] Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental, Rio Branco, AC, Brazil.

^[3] Instituto Federal do Acre, Campus de Cruzeiro do Sul, Cruzeiro do Sul, Acre, Brasil.

^[4] Laboratório de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Centro Multidisciplinar, Campus Floresta, Universidade Federal do Acre, Cruzeiro do Sul, AC, Brasil.

^[5] Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, AM, Brasil.

^[6] Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Manaus, AM, Brasil.

Corresponding author*: Paulo Sérgio Bernarde. Universidade Federal do Acre, Campus Floresta. Estrada do Canela Fina Km 12, Gleba Formoso, 69.980-000, Cruzeiro do Sul, Acre, Brasil.

Phone: 55 68 33112500; Mobile: 55 68 999472707

E-mail: SnakeBernarde@hotmail.com

Resumo:

Introdução: Comparou-se a eficácia dos testes de coagulação sanguínea total em 20 minutos (WBCT20) e o de Lee-White (LWCT) no diagnóstico do envenenamento ofídico. **Métodos:** Avaliou-se 89 casos de ofidismo atendidos no Hospital Regional do Juruá em Cruzeiro do Sul (Acre). **Resultados:** O WBCT20 apresentou-se normal em 33.7% e incoagulável em 66.3% dos pacientes, enquanto que o LWCT foi normal em 23.6% e alterado (prolongado ou incoagulável) em 76.4% dos casos, sem diferença significativa. **Conclusões:** O WBCT20 é importante no diagnóstico rápido do envenenamento ofídico e eficiente e barato para ser implantado em hospitais de locais isolados da Amazônia.

Keywords: Acidentes ofídicos. Ofidismo. Envenenamento. Envenenamento botrópico.

Abstract

Introduction: The efficacy of 20-minute whole blood clotting tests (WBCT20) and Lee-White (LWCT) tests in the diagnosis of snakebite was compared. **Methods:** We evaluated 89 cases of snakebite treated at the Hospital Regional do Juruá em Cruzeiro do Sul, Acre, Brazil. **Results:** WBCT20 results were normal in 33.7% and unclottable in 66.3% of cases, while LWCT results were normal in 23.6% and altered (prolonged or unclottable) in 76.4% of cases, with no significant difference. **Conclusions:** The WBCT20 is important in the rapid diagnosis of snakebite, is efficient and inexpensive and can be deployed in isolated hospitals of the Amazon.

Keywords: Snakebites. Ophidism. Envenomation. Botropic envenomation.

Acidentes ofídicos são considerados desafios para o sistema de saúde de populações de áreas tropicais e subtropicais que apresentam limitações relacionadas a falta de recursos para o manejo clínico dos pacientes¹. A Organização Mundial de Saúde e várias instituições indicam o uso do teste de coagulação total em 20 minutos (WBCT20) como indicador de envenenamento sistêmico e tratamento precoce do ofidismo¹. O aumento do tempo de coagulação pode confirmar o diagnóstico do envenenamento ofídico, pela demonstração da

coagulopatia e consequente efeito sistêmico do envenenamento, e pode avaliar o sucesso da soroterapia, através do monitoramento do paciente até a reversão da incoagulabilidade².

O envenenamento botrópico corresponde a maioria dos casos dos acidentes ofídicos no Brasil e pode promover coagulopatia e causar manifestações hemorrágicas^{3,4}. Essa ação decorre da hidrólise do fibrinogênio em fibrina e da atividade pró-coagulante que ativa os fatores II e X da coagulação, tornando o sangue incoagulável, respectivamente⁴.

No Brasil o Ministério da Saúde⁵ recomenda o uso do teste de coagulação sanguínea Lee-White (LWCT) para auxílio no diagnóstico do envenenamento ofídico e para a avaliação da eficácia do antiveneno. Apesar de ser um teste simples, nem todos os hospitais localizados em regiões remotas da Amazônia, apresentam laboratórios e condições para a realização. Embora o WBCT20 seja indicado no diagnóstico do acidente ofídico (e. g. ¹), há uma necessidade de avaliar sua acurácia comparando com outras alternativas como LWCT³. Diante disso, este estudo avaliou a sensibilidade do WBCT20 na confirmação do envenenamento ofídico em um hospital do oeste da Amazônia brasileira.

Nesse estudo foram avaliados os casos de acidentes ofídicos atendidos no Hospital Regional do Juruá (HRJ) no Município de Cruzeiro do Sul, Acre, Brasil, no período de 1 de julho de 2017 a 30 de junho de 2018. As informações clínicas e epidemiológicas desse estudo foram publicadas previamente (ver ⁶). Durante o período ocorreram 133 acidentes ofídicos, sendo que destes, em 99 foram realizados o teste WBCT20 e 113 o de Lee-White (**Figura 1**). Em 89 pacientes, ambos os testes de coagulação sanguínea foram realizados. Todos os acidentes tiveram o envenenamento confirmado a partir do diagnóstico clínico associado a alterações laboratoriais, ELISA para a identificação de toxinas botrópicas circulantes e/ou pela identificação da serpente quando esta foi levada até o hospital ou fotografada pelo paciente ou acompanhante (ver detalhes da metodologia em ^{6,7}). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (número do parecer 2.084.630).

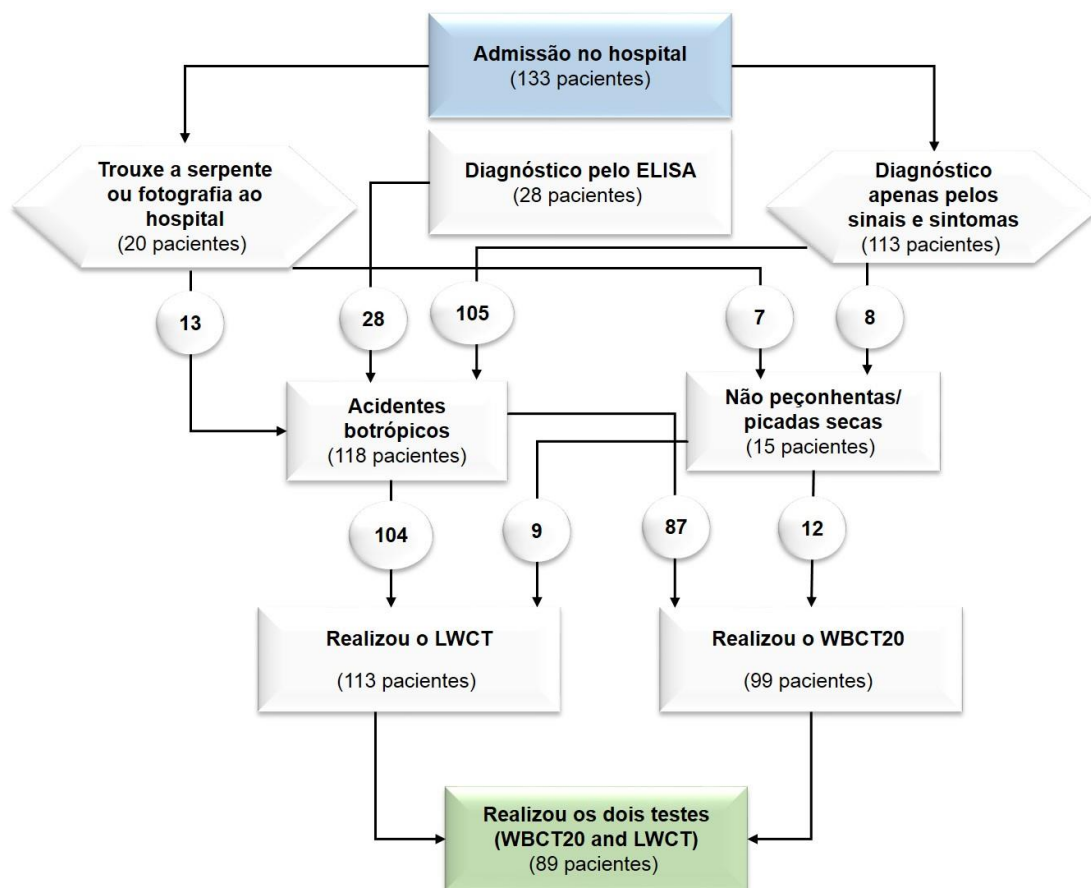


Figura 1. Fluxograma das etapas de seleção dos pacientes para o estudo.

Na admissão hospitalar foi realizado o WBCT20, para isso foram coletados dois mililitros de sangue venoso em um tubo de ensaio de vidro limpo, novo e seco, o qual foi deixado na vertical e imóvel à temperatura ambiente durante 20 minutos. O teste foi considerado positivo quando após os 20 minutos o sangue estava líquido (não coagulado) e negativo quando estava semi-sólido (coagulado)⁸ (**Figura 2**). O LWCT foi coletado durante ou após a soroterapia conforme a rotina do hospital, para este teste foi coletado sangue venoso e imediatamente adicionado em dois tubos de vidro (13 × 75 mm). Os tubos foram colocados em banho-maria a 37°C por cinco minutos. O tempo foi cronometrado a partir do momento da coleta sanguínea. Após cinco minutos foi verificado se houve a formação do coágulo pela inclinação o tubo a 90 graus. O tempo da formação do coágulo indicou o tempo de coagulação do sangue total⁹. A análise estatística foi realizada no software SPSS versão 25.0. Variáveis qualitativas foram submetidas ao teste de Qui-quadrado e a diferença foi considerada significativa quando $p < 0,05$.

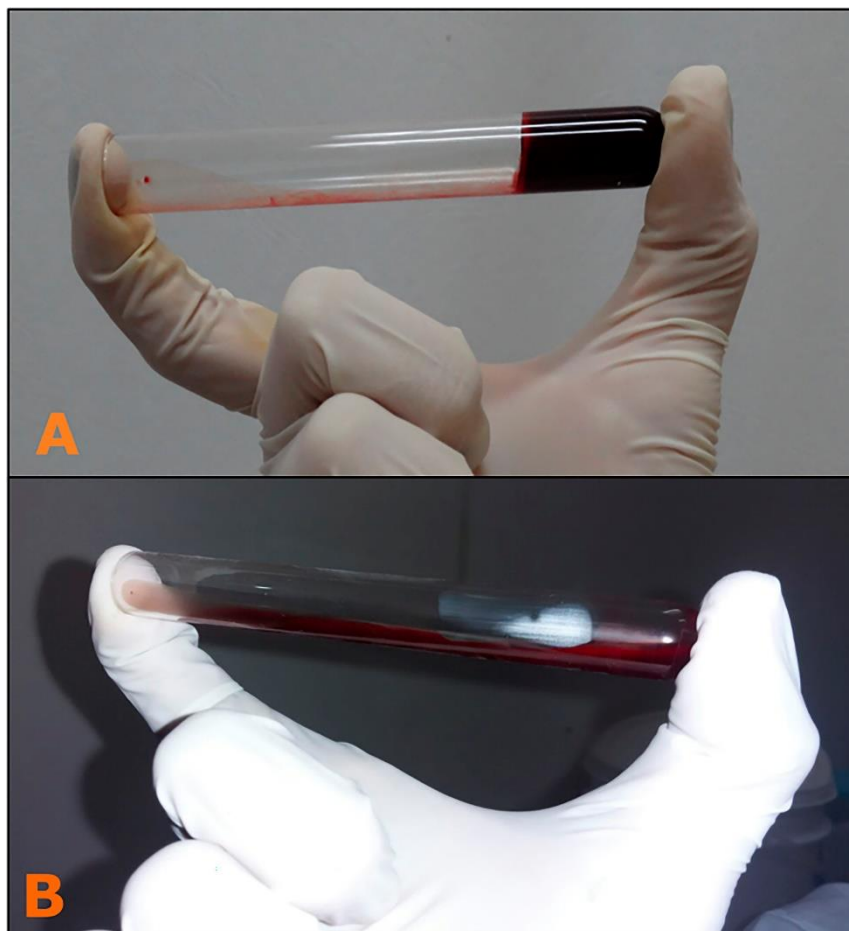


Figura 2. A) Resultado de WBCT20 negativo (sangue coagulado); B) Resultado de WBCT20 positivo (sangue incoagulável).

Foram analisados os testes de coagulação de 89 pacientes vítimas de acidente ofídico, 81 (91%) desses foram acidentes botrópicos, os demais foram atribuídos a serpentes não venenosas ou picadas secas. O teste de coagulação WBCT20 apresentou-se normal em 30 (33.7%) e incoagulável em 59 (66.3%) pacientes. O LWCT apresentou-se normal em 21 (23.6%) e alterado em 68 (76.4%) casos, dos quais 58 (65.2%) tiveram resultado prolongado e 10 (11.2%) incoagulável (Tabela 1). Os resultados dos testes foram concordantes em 60 (67.4%) pacientes, 11 (12.4%) apresentaram-se normal e 49 (51.1%) alterado em ambos os testes. Não houve diferença significativa entre os testes de coagulação WBCT20 e LWCT (Qui-quadrado = 4.311, $p = 0.116$).

Tabela 1. Relação dos acidentes ofídicos de 89 pacientes atendidos no HRJ (Cruzeiro do Sul, Acre) que realizaram os testes de coagulação sanguínea WBCT20 e LWCT.

Variável	WBCT20		LWCT		
	Normal	Incoagulável	Normal	Prolongado	Incoagulável
Tipo de acidente					
Botrópico (81)	26 (32.1%)	55 (67.9%)	16 (19.8%)	55 (67.9%)	10 (12.3%)
Não peçonhenta/picada seca (8)	4 (50%)	4 (50%)	5 (62.5)	3 (37.5%)	0
Total (89)	30 (33.7%)	59 (66.3)	21 (23.6%)	58 (65.2%)	10 (11.2%)

O WBCT20 nesse estudo se mostrou um método eficiente para determinar a presença de envenenamento sistêmico, visto que os resultados foram concordantes com o LWCT em 67.4% dos pacientes. Nosso resultado corrobora com os achados de outros autores (Gaus et al. 2013; Sano-Martins, et al. 1994)^{1,2}, no qual o WBCT20 foi preditor para a presença de alterações sistêmicas dos envenenamentos e auxiliou na indicação para a terapia antiveneno imediata, evitando que pacientes fossem expostos aos efeitos adversos da antibioticoterapia e soroterapia desnecessária. Alguns casos de alteração do tempo de coagulação em pacientes picados por serpentes não peçonhentas e de picadas secas, se deve provavelmente ao fato de que algumas serpentes da família Dipsadidae (e.g., *Helicops angulatus*) podem causar esse tipo de coagulopatia em suas mordidas (Mota-da-Silva et al. 2019b¹⁰).

Entre os 59 (66.3%) pacientes com o WBCT20 positivo, 49 (55.1%) deles também apresentaram o LWCT alterado. Nos 10 (11.2%) pacientes com WBCT20 alterado e o teste LWCT normal (coletado após a soroterapia), possivelmente houve a reversão da toxicidade do veneno pelo efeito do antiveneno administrado. Em 19 (21.3%) casos, o WBCT20 apresentou-se normal e o segundo teste apresentou alteração da coagulação sanguínea, provavelmente a coagulopatia poderia não ter se estabelecido ainda no momento da coleta do sangue, principalmente nos casos em que o teste foi coletado entre 30 a 40 minutos após o envenenamento.

Ratnayake et al (2017)¹¹, aponta que para o WBCT20 apresentar uma boa sensibilidade é primordial o uso de um tubo padrão de 5 mL, com a utilização de apenas um mililitro de sangue. Neste estudo foram utilizados dois mililitros de sangue para o teste, essa seria uma possível explicação para os casos falsos negativos. Outra razão que precisa ser levada em consideração seria a leitura do teste aos 20 e 30 minutos que apesar de em alguns casos a interpretação ser diferente, um estudo feito em Benin recomenda que a leitura aos 30 minutos, permite a diminuição de resultados falsos negativos¹². Nos locais que se propõe a usar o método, o uso de vidros, limpos e novos são imprescindíveis, pois recipientes de

polipropileno e o polietileno prolongam o tempo de coagulação podendo causar uma interpretação errônea¹³.

As diferenças nos resultados de alterações no tempo de coagulação sanguínea entre o LWCT (76.4%) quando comparada ao WBCT20 (66.3%) pode ser explicada por que o TC Lee White foi coletado geralmente após a administração do antiveneno e a coagulabilidade poderia estar restaurada. Sousa et al. (2018)² observaram que o LWCT apresentou falsos negativos em seu estudo e isso pode ocorrer em casos de coagulopatia leve, no qual o LWCT pode apresentar-se normal, mesmo com baixas concentrações de fibrinogênio, além de outros fatores relacionados ao método utilizado pelos profissionais do hospital.

A distância que as vítimas de locais isolados percorrem para receber atendimento médico hospitalar aumenta o tempo do tratamento inicial afetando no prognóstico do paciente^{6,7}. Em muitos casos, os pacientes são provenientes da zona rural de municípios que não possuem hospitais com infraestrutura para realizar testes de coagulação mais sofisticados. Na Tailândia, Wongkrajang et al (2011)¹⁴ concluíram que o WBCT20 pode ser promovido como um teste de coagulação padrão em locais com ausência de outros métodos. Entretanto, é ressaltado que para essa implementação é necessário a padronização do teste sobre o uso de material adequado e o treinamento dos profissionais.

Benjamin et al (2018)¹² levanta uma questão que precisa ser melhor investigada, sobre a ligação entre a presença de edema local e um possível retorno do envenenamento após o edema ser desfeito, nessa teoria compartimentos com veneno ficariam presos no edema e após a diminuição do mesmo a quantidade de veneno na corrente sanguínea poderia aumentar novamente. Através dessa hipótese seria importante a repetição do teste de coagulação após a redução do edema para verificar uma possível recorrência do envenenamento e auxiliar nas medidas terapêuticas. Rajeswari e Suneetha (2019)¹⁵ observaram que o WBCT20 foi bastante eficaz para administração de doses adicionais de antiveneno e isso contribuiu para uma melhora da função renal dos pacientes, diminuindo as chances de hemodiálise.

O WBCT20 se mostrou uma importante ferramenta para auxiliar no diagnóstico rápido do envenenamento botrópico. A ausência de coagulopatia não descarta a possibilidade de envenenamento, uma vez que nem todos os casos de acidentes botrópicos promovem esse distúrbio hemostático^{2,4}, sendo necessária em ambas as situações a avaliação

dos sinais e sintomas característicos para o diagnóstico. Assim como sugerido por Sousa et al (2018)⁴ para o LWCT, sugerimos também o cuidado para evitar demora na soroterapia em casos de resultados falsos negativos ou para uso desnecessário em pacientes falsos positivos. É fundamental estudos mais aprofundados (e. g., consumo de fibrinogênio) para avaliar melhor a eficiência sensibilidade do WBCT20 do diagnóstico do envenenamento ofídico e para monitorar a restauração da coagulabilidade sanguínea após a soroterapia.

O teste seria um método eficiente e barato para ser implantado em muitos hospitais em locais isolados da Amazônia brasileira e poderia contribuir para confirmar o envenenamento ofídico, especialmente em áreas de zona rural que são os locais onde mais ocorrem esses casos e muitos não dispõe de laboratórios providos de recursos materiais para realizar testes de coagulação. No entanto, é necessária a padronização do método e treinamento adequado dos profissionais a fim de evitar interpretações erradas.

Agradecimentos

Agradecemos aos diretores do Hospital Regional do Juruá de Cruzeiro do Sul pela permissão para esta pesquisa e a toda equipe de médicos, enfermeiras, auxiliares de enfermagem e demais funcionários do hospital pelo apoio a este estudo.

Conflito de Interesses

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. Gaus DP, Herrera DF, Troya CJ, Guevara AH. Management of snakebite and systemic envenomation in rural Ecuador using the 20-minute whole blood clotting test. *Wild. Environ. Med.* 2013;24:345-350.
2. Sano-Martins IS, Fan HW, Castro SCB, Tomy SC, França FOS, Jorge MT, et al. Reliability of the simple 20 minute whole blood clotting test (WBCT20) as an

- indicator of low plasma fibrinogen concentration in patients envenomed by *Bothrops* snakes. *Toxicon*. 1994;32(9):1045-1050.
3. Oliveira RB, Ribeiro LA, Jorge MT. Fatores associados à incoagulabilidade sanguínea no envenenamento por serpentes do gênero *Bothrops*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2003;36(6):657-663.
 4. Sousa JDB, Sachett JAG, Oliveira SS, Mendonça-da-Silva I, Marques HO, Lacerda MVG, et al. Accuracy of the Lee–White Clotting Time Performed in the Hospital Routine to Detect Coagulopathy in *Bothrops atrox* Envenomation. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2018;00 (0):1–5.
 5. Ministério da Saúde. Guia de vigilância em saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Brasília-DF, Brasil; 2019 [atualizado em 2019; citado 2020 Jul 4] Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_3ed.pdf.
 6. Mota-da-Silva A, Colombini M, Moura-da-Silva AM, Souza RM, Monteiro WM, Bernarde PS. Epidemiological and clinical aspects of snakebites in the upper Juruá River region, western Brazilian Amazonia. *Acta Amaz.* 2020; 50(1):90-99.
 7. Mota-da-Silva A, Colombini, M, Moura-da-Silva AM, Souza RM, Monteiro WM, Bernarde PS. Ethno-knowledge and attitudes regarding snakebites in the Alto Juruá region, Western Brazilian Amazonia. *Toxicon*. 2019a;171:66-77.
 8. Warrell, DA, Looareesuwan S, Theakston RD, Phillips RE, Chanthavanich P, Viravan C, et al. Randomized comparative trial of three monospecific antivenoms for bites by the Malayan pit viper (*Calloselasma rhodostoma*) in southern Thailand: clinical and laboratory correlations. *Am. J. trop. Me. Hyg.* 1986;35,1235-1247.
 9. Lee RI, White PD. A clinical study of the coagulation time of blood. *Am. J. Med. Sci.* 1913;145:496–503.

10. Mota-da-Silva A, Mendes VKG, Monteiro WM, Bernarde PS. Non-venomous snakebites in the Western Brazilian Amazon. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2019b;52:e20190120.
11. Ratnayake I, Shihana F, Dissanayake DM, Buckley NA, Maduwage K, Isbister GK. Performance of the 20-minute whole blood clotting test in detecting venom induced consumption coagulopathy from Russell's viper (*Daboia russelii*) bites. *Thrombosis and Haemostasis*. 2017;117(3):500-507.
12. Benjamin JM, Chippaux JP, Sambo BT, Massougboji A. Delayed double reading of whole blood clotting test (WBCT) results at 20 and 30 minutes enhances diagnosis and treatment of viper envenomation. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 2018;24(14):1-12.
13. Stone R, Seymour J, Marshall O. Plastic containers and the whole-blood clotting test: glass remains the best option. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2006; 100:1168-1172.
14. Wongkrajang P, Chinswangwatanakul W, Tientadakul P, Opartkiattikul N. Whole Blood Clotting Time: Variation of Practice in Coagulation Laboratory, Members of Thailand National External Quality Assessment Scheme. *Siriraj Med J*. 2011;63(3):81-84.
15. Rajeswari GK, Suneetha O. A Study on Whole Blood Clotting Test Vs. International Normalized Ratio with Whole Blood Clotting Test In Management of Hemotoxic Snake Envenomation in a Tertiary Care Hospital, Guntur. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. 2019;18(8):15-21.

7. CONCLUSÃO GERAL

Os acidentes por serpentes do gênero *Bothrops* constituem a maior quantidade de acidentes ofídicos na região, sendo a maioria dos casos reportados para a espécie *B. atrox*. Os indivíduos juvenis foram responsáveis pelo maior número de casos clínicos, especialmente na estação chuvosa. As picadas das serpentes pequenas acometeram principalmente nos pés, enquanto indivíduos maiores atingem alturas mais altas. Constatou-se que o tamanho do espécime influencia na severidade do envenenamento, no qual os casos mais graves foram associados a serpentes grandes e os casos leves e moderados a espécimes pequenos.

O uso do WBCT20 como método de diagnóstico para envenenamento sistêmico, demonstrou que o teste é eficiente e de baixo custo para determinar a presença de coagulopatias. Diante da realidade local, compartilhada em muitos lugares da região amazônica, que apresentam unidades de saúde na zona rural com estrutura física, muitas vezes inadequada, sem a presença de laboratórios, a implantação do teste poderia contribuir para confirmar o envenenamento ofídico, especialmente em locais isolados.

Portanto, além de observar os sinais e sintomas dos casos clínicos, as características físicas, como o comprimento da serpente servem como base para decidir a gravidade do envenenamento. Na ausência da informação do tamanho do animal, a distância entre as puncturas também pode ser uma informação primordial para que o profissional de saúde correlacione com o comprimento da serpente e a partir dessas informações seja possível estimar a gravidade do caso e a quantidade de antiveneno para o tratamento. O método de diagnóstico WBCT20 também pode auxiliar na classificação da severidade do caso. Esses aspectos podem ser incluídos em treinamentos para os profissionais de saúde no país afim de melhorar as condutas no atendimento dos casos. Além de que, reforça a necessidade de que a educação em saúde para a população deve abordar não somente a prevenção e primeiros socorros, como também a importância de observar as características do animal e quando possível levá-lo ao hospital para ajudar no diagnóstico e na conduta médica.

8. ANEXOS

8.1 PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Serpentes Peçonhentas e Acidentes Ofídicos em Cruzeiro do Sul e Região- Acre

Pesquisador: Wuelton Marcelo Monteiro

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 67196017.0.0000.0005

Instituição Proponente: Diretoria de Ensino e Pesquisa - DENPE

Patrocinador Principal: Fundação de Medicina Tropical do Amazonas - FMT/IMT/AM

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.084.630

Apresentação do Projeto:

SERPENTES PEÇONHENTAS E ACIDENTES OFÍDICOS EM CRUZEIRO DO SUL E REGIÃO - ACRE.

Este projeto trata-se de um estudo sobre os acidentes ofídico na Amazônia, seu impacto em Saúde Pública. No contexto do Alto Juruá, no Acre, região caracterizada por alta incidência de acidentes de ofídicos. Dentre as 62 espécies de serpentes peçonhentas do Brasil, 13 ocorrem no Acre, e 12 no Vale do Juruá, sendo mais frequente, acidentes com serpentes do gênero Bothrops, devido a sua abundância. Trata-se, de um grupo de espécies dentro do gênero, apresentando variações na composição do veneno, entre espécies diferentes como também, intraespecífica. Devido a estas diferenças geográficas e taxonômicas é que surgiu a necessidade de realizar um estudo sobre a diversidade de serpentes relacionadas a acidentes ofídicos e avaliar os aspectos clínicos dos envenenamentos comparando com outras regiões quanto a possibilidade de variabilidade de manifestações (clínicas e laboratoriais) dentro de um mesmo gênero, e, produzir informações sobre sinais e sintomas apresentados em acidentes com serpentes que causam relativamente menos acidentes nesta região. Pretende-se ainda, verificar associação da gravidade do acidente com circunstâncias relacionadas às condutas frente ao acidente, aspectos relacionados ao indivíduo e também a própria serpente causadora do acidente quando levada ao hospital (espécie, tamanho e idade).

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 2.084.630

Objetivo da Pesquisa:

Realizar um estudo sobre a diversidade de serpentes peçonhentas e os aspectos clínicos e epidemiológicos dos casos de envenenamentos por serpentes em Cruzeiro do Sul e região (Acre).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

No que se refere aos RISCOS: Considera-se como riscos da pesquisa a exposição indesejada do membro afetado pela picada de cobra, por meio de fotografia, incômodo durante a realização de entrevista e inspeção dos sinais e sintomas e perda de privacidade e de confidencialidade devido ao acesso da pesquisadora aos dados clínicos e resultados de exames disponíveis no prontuário do paciente e as Fichas do Sinan. Dessa forma, para atenuar ou minimizar os riscos descritos acima, as fotografias realizadas serão restritas ao membro afetado e somente serão divulgadas diante de autorização para o uso de imagem assinada pelo paciente. No caso de desconforto por parte do paciente para a participação da pesquisa, os dados não serão coletados com o mesmo. No caso dos dados do prontuário clínico, somente serão acessados pela pesquisadora mediante autorização do paciente entrevistado, descrita no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, ademais, nos dados coletados da pesquisa não constarão nomes dos pacientes, sendo identificados por siglas, mantendo confidencialidade.

No tocante aos BENEFÍCIOS: Através da participação na pesquisa, o entrevistado não terá benefícios diretos, porém, a pesquisa poderá estar contribuindo para o avanço de novos conhecimentos sobre acidentes ofídicos na região.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de grande relevância para a saúde pública, visto que quase 20% dos acidentes ofídicos no Brasil ocorrem na região deste estudo, e poucas informações registradas, e pela proposta desse projeto, os dados serão levantados e analisados de forma a enriquecer o conhecimento desse agravo visando assim buscar alternativas que visem a redução e o tratamento adequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termo de anuência devidamente apresentado com a autorização do setor responsável;
Folha de Rosto devidamente em coerência com o projeto;
Termo de Assentimento devidamente elaborado;
TCLE bem elaborado;
Termo de Autorização de Imagem devidamente apresentado.
Todos os documentos necessários devidamente apresentados.

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 2.084.630

Recomendações:

Não se faz necessário

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Concluo em meu parecer o projeto está em perfeitas condições legais para execução.

Considerações Finais a critério do CEP:

O presente projeto está APROVADO e os interessados ficam informados de apresentar a este CEP os relatórios parciais e final do estudo, conforme prevê a Resolução CNS nº 466/2012, utilizando o formulário de Roteiro para Relatório Parcial/Final de estudos clínicos Unicêntricos e Multicêntricos, proposto pela CONEP em nossa home page.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_901853.pdf	18/04/2017 11:40:08		Aceito
Outros	170417185339_0001anuenciahospitaljuruua.pdf	18/04/2017 11:34:30	Wuelton Marcelo Monteiro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_AUTORIZACAO_IMAGEM.doc	18/04/2017 11:32:56	Wuelton Marcelo Monteiro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	ASSENTIMENTO.doc	18/04/2017 11:31:41	Wuelton Marcelo Monteiro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_prontuario.doc	18/04/2017 11:31:16	Wuelton Marcelo Monteiro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_OfidismoAltoJuruuaAC_FMT.doc	18/04/2017 11:28:26	Wuelton Marcelo Monteiro	Aceito
Folha de Rosto	170417185312_0001.pdf	18/04/2017 11:24:40	Wuelton Marcelo Monteiro	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 2.084.630

MANAUS, 26 de Maio de 2017

Assinado por:
Marilaine Martins
(Coordenador)

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br


8.2 CITES PER DOC E FATOR DE IMPACTO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL

also developed by scimago:  SCIMAGO INSTITUTIONS RANKINGS

SJR Scimago Journal & Country Rank

[Home](#) [Journal Rankings](#) [Country Rankings](#) [Viz Tools](#) [Help](#) [About Us](#)

Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical

COUNTRY	SUBJECT AREA AND CATEGORY	PUBLISHER	H-INDEX
<p>Brazil</p> <p> Universities and research institutions in Brazil</p>	<p>Immunology and Microbiology Parasitology</p> <p>Medicine Infectious Diseases Microbiology (medical)</p>	<p>Sociedade Brasileira de Medicina Tropical</p>	<p>51</p>
PUBLICATION TYPE	ISSN	COVERAGE	INFORMATION
<p>Journals</p>	<p>00378682, 16789849</p>	<p>1972-1976, 1986-2020</p>	<p>Homepage</p> <p>How to publish in this journal</p> <p>rsbmt@rsbmt.uf-tm.edu.br</p>