

Alterações hematológicas em bovinos submetidos ao envenenamento crotálico

Haematological alterations in cattle submitted to crotalic poisoning.

LAGO, L. A. ; MELO, M. M. ; FERREIRA, P. M. ; FACURY FILHO, E. J.
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da EMV - UFMG

RESUMO: O quadro clínico observado ao exame do animal acidentado pela cascavel sul americana (*Crotalus durissus terrificus*), portadora de veneno contendo quantidades significativas da toxina crotamina, é de difícil diferenciação clínica com outras doenças. Com o objetivo de se estabelecer alterações hematológicas que auxiliem o diagnóstico desta condição mórbida, cinco fêmeas bovinas mestiças, com idade variando entre dois e três anos, foram inoculadas com veneno crotálico do tipo crotamina positivo, utilizando a dose de 0,03 mg por quilo de peso vivo, na região glútea, por via intramuscular. Colheu-se amostras de sangue para realizar os exames laboratoriais antes e a cada duas horas após a inoculação, até a morte dos animais. Verificou-se que: o número de hemácias, o volume corpuscular médio (VCM), a hemoglobina corpuscular média (HCM), os números de leucócitos totais, de linfócitos, de neutrófilos e de monócitos, tiveram aumentos significativos e que os números de leucócitos totais apresentaram comportamento atípico, caracterizado por leucocitoses com valores atingindo até 60.000 células/mm³ a cada seis horas, alternadas por quedas para em torno de 13.000 células/mm³. Pelo exposto, concluiu-se que a observação destas alterações poderá auxiliar o estabelecimento do diagnóstico desta afecção nos bovinos.

PALAVRAS -CHAVE: Envenenamento crotálico; hemograma; bovinos.

SUMMARY : The clinical findings observed at examination of an animal attacked by South American rattle snake (*Crotalus durissus terrificus*), that has poison containing significant crotoamine toxin quantities are difficult to distinguish from other diseases. With the aim of establishing haematological parameters of diagnostic value for this condition diagnosis, five crossbred female cattle, from two to three years old, were inoculated with positive crotalic -crotoamine poison, using 0.03 mg/kg of body weight, IM, in gluteous region. Blood samples were collected for lab exams each two hours until animal's death. It was observed that: erythrocyte count, mean corpuscular volume, mean haemoglobin corpuscular, total leukocyte count, lymphocytes, neutrophils and monocytes numbers showed few changes; and leukocytes presented atypical behavior verified by leukocytosis reaching absolute values around 60000 cell /mm³ every six hours, intercalary by decreasing values of about 13.000 cell /mm³ every two hours. According to these findings, it is concluded that, associating them to clinical signs observed, allows the practitioner establish a safer diagnosis of cattle crotalic poisoning. **KEYWORDS :** Crotalic poisoning; hemogram; cattle

Rev. Bras. Saúde Prod. An. 1(1):7-13; 2001.
Publicação Online da EMV - UFBA

INTRODUÇÃO

No Brasil a intoxicação provocada pelo veneno das serpentes do gênero *Crotalus*, principalmente a espécie *Crotalus durissus terrificus* LAURENTI (1768), conhecida como cascavel, é responsável por perdas econômicas na pecuária e por mortes em humanos LAGO (1996). Nestes últimos, os acidentes ofídicos anuais apresentaram-se com número de 20000 notificações e deste total, 7 a 40%, dependendo da região, são causados por esse gênero de serpente que possui um eficiente aparelho inoculatório de veneno (RIBEIRO 1990; BARRAVIERA et al. 1995; SGARBI et al. 1995). Em medicina veterinária não existem ainda informações precisas no que se refere à

incidência desta condição mórbida, no entanto, é consenso entre os veterinários que muitas perdas ocorrem anualmente, principalmente entre os bovinos. Do ponto de vista clínico, o estabelecimento de um diagnóstico preciso do envenenamento crotálico nessa espécie animal, mesmo com apoio laboratorial, é de difícil realização. O médico veterinário, na maioria das vezes, é chamado para atender animais que já se encontram em estado clínico terminal e quando existe tempo hábil para um exame clínico completo, este se vê envolto em grandes dificuldades com o diagnóstico diferencial (ARAUJO et al. 1963b ; LAGO 1996). Os bovinos estão entre os animais mais sensíveis a

ação das toxinas presentes no veneno inoculado pela cascavel sul-americana e manifestam, de forma dramática, esta sensibilidade através de sinais clínicos (BRASIL & PESTANA 1909; BELLUOMINI 1972). Não obstante a contundência das alterações clínicas apresentadas estas não são, em absoluto, suficientes para se estabelecer um diagnóstico clínico conclusivo, uma vez que o comportamento clínico observado no animal, nestas condições, é comum a outras enfermidades LAGO (1996). A composição e a toxicidade das substâncias contidas no veneno sofrem variações de acordo com: a espécie de serpente, indivíduo, idade, sazonalidade e distribuição geográfica do réptil (HUDELSON & HUDELSON 1995b). Na sua maioria os componentes são enzimas proteolíticas que interferem em diversos mecanismos bioquímicos fisiológicos e suas ações podem ser classificadas como anticoagulantes, neurotóxicas e miotóxicas, com absorção do veneno principalmente por via linfática (ROSENFELD & BELLUOMINI 1960; AZEVEDO-MARQUES et al. 1985; BERCOVICI et al. 1987; HUDELSON & HUDELSON 1995c; JORGE & RIBEIRO 1988; MANDELBAUM 1990). Dessa forma a fosfolipase A₂, enzima contida neste veneno, induz aumento sérico de prostaglandinas que provocam, entre outros efeitos, hemoconcentração, hipoproteinemia e hemólise em alguns casos (HUDELSON & HUDELSON 1995a).

A hemólise intravascular “*in vivo*” é vista no envenenamento elápdico e não ocorre no crotálico (SMITH & FIGGE 1991). As células do sangue sofrem alterações que basicamente são decorrência das ações da enzima acima mencionada; seja diretamente reagindo com a lecitina, presente na membrana das hemácias, seja causando aumento da permeabilidade, ou induzindo aumento dos níveis séricos das prostaglandinas, que provocam, entre outros efeitos, queda de pressão arterial, vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e hemoconcentração. Como consequência ocorrem modificações do volume globular e policitemia relativa (AZEVEDO-

MARQUES et al. 1990; HUDELSON & HUDELSON 1995b). As alterações da série branca do sangue descritas, vão desde pequenas alterações como leucocitose com neutrofilia ou leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda até eosinofilia relativa e/ou absoluta (MAGALHÃES et al. 1986; JORGE & RIBEIRO 1992). O objetivo deste trabalho é avaliar o comportamento das alterações hematológicas, no que se refere ao leucograma e ao eritrograma, provocadas pelo envenenamento crotálico experimental do tipo crotamina positivo, em bovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas cinco fêmeas bovinas, mestiças holandês e zebú, com idade variando entre dois e três anos. Os animais foram mantidos em baias individuais, vermifugados com anti-helmíntico benzimidazole (Smithkline-Brasil) e banhados com solução de amitraz (Mallinckrodt Vet Ltda) para controle de ectoparasitas, procedendo conforme recomendações dos respectivos fabricantes. Receberam alimentação composta de capim elefante picado (40%), silagem de milho (40%), ração concentrada comercial para novilhas com 14% de proteína bruta (19,8%), sal mineral (0,2%) e água a vontade.

O veneno crotálico utilizado foi fornecido pela Fundação Ezequiel Dias - FUNED, na quantidade de 55mg, do tipo crotamina positivo, diluídos em 5,5 mililitros de salina a 0,85% e mantido sob refrigeração até o momento de sua utilização. A inoculação foi feita por via intramuscular na região glútea, com a deposição do veneno a \pm seis milímetros de profundidade, usando seringa hipodérmica descartável com dispositivo de esparadrapo conforme preconizou BELLUOMINI (1972). A dose empregada foi de 0,03mg do veneno por quilo de peso vivo. Foi estabelecido um horário de início do experimento identificado como T₀ e que foi o grupo controle do experimento. Neste momento realizou-se em cada animal o seguinte:

colheita de amostras de sangue venoso na veia jugular, em tubos Venoject (Terumo Medical Corporation) contendo solução de E.D.T.A (Acido Etilenodiaminotetracético) a 10% e confeccionados esfregaços sanguíneos. E em seguida foi feito o seguinte:

Inoculação dos animais com o veneno crotálico.

A partir do envenenamento novas amostras foram colhidas a cada duas horas, durante um período de 24 horas e estas foram identificadas como T₀, T₂, T₄, T₆, T₈, T₁₀, T₁₂, T₁₄, T₁₆, T₁₈, T₂₀, T₂₂, T₂₄, que configuraram os grupos experimentais. O delineamento experimental foi um sistema de “ blocos ao acaso”, onde cada animal representou um bloco e os tempos estudados os tratamentos, destacando-se o T₀ como sendo controle experimental (cada animal foi controle absoluto de si mesmo) SNEDECOR & COCHRAN (1967). Assim sendo o trabalho apresentou 44 graus de liberdade para análise estatística de variância (ANOVA). Além desse método estatístico os dados foram tratados também por regressão linear, cúbica e quadrática com emprego dos testes de Student (**t**), Fischer (**F**) e análise de diferença mínima significativa (**dms**), segundo SNEDECOR & COCHRAN (1967).

Os parâmetros hematológicos analisados neste trabalho foram: número de hemácias, volume globular, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina, concentração de hemoglobina corpuscular média, hemoglobina corpuscular média, número de leucócitos totais, número de linfócitos, número de neutrófilos segmentados, número de eosinófilos, número de monócitos, número de basófilos e neutrófilos bastonete.

Os esfregaços sanguíneos foram corados pelo corante de May Grunwald-Giensa para a contagem diferencial e avaliação citológica. As contagens de hemácias e de leucócitos totais foram realizadas em aparelho de contagem celular eletrônico, da marca CELM - mod. CC 510 (Celm ®,).

A determinação da concentração de hemoglobina foi feita utilizando-se kit comercial para hemoglobina (Labtest Diagnóstica.), pelo método da cianometahemoglobina. As determinações do volume globular, da contagem diferencial dos leucócitos e o cálculo dos índices hematimétricos, foram efetuados de acordo com a técnica descrita por FERREIRA NETO et al. (1977).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os componentes do eritrograma que apresentaram alterações estatisticamente significativas foram: o número médio de hemácias, que se elevou; o volume corpuscular médio e a hemoglobina corpuscular média, que diminuíram (Figura 1).

Estas alterações sugerem serem conseqüências de um estado de hemoconcentração provocado por ações de prostaglandinas, que tem seus níveis séricos aumentados como consequência das ações diretas do veneno e o decorrente aumento de permeabilidade capilar com perda de líquido para os tecidos (ROSENFELD 1965; AZEVEDO-MARQUES et al. 1990).

Os componentes do leucograma que apresentaram desvios estatisticamente significativas foram: os números de leucócitos totais, de linfócitos, de neutrófilos segmentados e de monócitos (Figura 2).

Os números de leucócitos totais apresentaram elevações cíclicas significativas e que ocorreram em conseqüência de que o número de linfócitos e de neutrófilos segmentados se comportaram também desta maneira. Poucos autores se referem ao comportamento dos leucócitos no envenenamento crotálico e quando o fazem é apenas como dado complementar. AZEVEDO-MARQUES et al. (1990) citaram que alterações de leucograma são esperados nesta enfermidade. ROSENFELD (1965) relata que, nesses casos, a leucocitose por neutrofilia está presente. JORGE & RIBEIRO (1992) observaram

leucocitose moderada com desvio à esquerda, além de eosinofilia relativa e/ou absoluta e MAGALHÃES et al. (1986) encontraram valores de leucograma pouco alterados. No entanto, deve se considerar que os autores que fizeram referência ao comportamento leucocitário, na maioria das vezes, consideraram relatos de casos em humanos, onde os leucogramas foram feitos como rotina clínica do hospital em que foram atendidos. A observação da figura 2, revela um comportamento celular do tipo cíclico cujas oscilações máximas e mínimas vão, respectivamente, de 60.000 a 13000 leucócitos/mm³. O valor máximo dos leucócitos totais observado duas a três horas após a inoculação, provavelmente foi devido a mobilização dos leucócitos do compartimento circulatório periférico, que se somaram aos leucócitos do compartimento circulatório central. Este rápido efeito provavelmente tenha se instalado devido a ação de hormônios produzidos pela glândula supra renal, no caso a adrenalina, responsável pela constrição de tecidos e vasos periféricos. Esta situação é ocorrência patente em todas as condições estressantes GILMAN et al. (1983). A esse efeito segue - se, imediatamente, uma queda brusca do número de leucócitos, chegando a em torno de 13.000 células /mm³, quando são passadas apenas seis horas do envenenamento. Esta diminuição, observada mais bruscamente nos linfócitos é vista também nos neutrófilos segmentados e se deve, supostamente, ao término da ação inicial da adrenalina GILMAN

CONCLUSÕES

As alterações hematológicas decorrentes do envenenamento crotálico experimental do tipo crotamina positivo com 0,03 mg/kg de peso vivo do veneno por via intramuscular são: no que diz respeito ao eritrograma, um quadro de hemoconcentração e com relação ao leucograma, caracterizadas por alterações expressivas no comportamento leucocitário, marcadas por leucocitoses de até 60.000 células/mm³, envolvendo aumentos e

et al. (1983). Seis horas após a inoculação, inicia-se nova elevação dos números de leucócitos, que atingem seus valores máximos quatro horas após (dez horas após o envenenamento) e que, possivelmente, seja devido a uma nova ação hormonal decorrida do "stress" provocado pelo estabelecimento de um processo inflamatório HARPER (1977).

O terceiro valor máximo observado em dezoito horas após a inoculação, provavelmente, se deu em decorrência da mobilização de grupamentos celulares de reserva (maturação), principalmente granulócitos e linfócitos, o que foi possível, supostamente, pela diminuição dos níveis séricos de corticosteróides observado no fim da fase aguda do processo inflamatório FAUCI & DALE (1974).

Ao analisarmos a tendência de um novo valor máximo dos leucócitos totais, quando são passadas vinte horas após a inoculação do veneno, verificamos um aumento do número de neutrófilos, aumento do número dos monócitos e uma ligeira diminuição do número dos linfócitos indicando, possivelmente o início da fase crônica do processo inflamatório BISSHOP et al. (1968). Eosinófilos, basófilos e neutrófilos acompanham coerentemente as outras respostas celulares, sem contudo, apresentarem desvios significativos do ponto de vista estatísticos.

diminuições bruscas (a cada seis horas) de todos os leucócitos, num comportamento característico do tipo cíclico. Apesar do assunto abordado neste trabalho ainda demandar muitas elucidações, nos concluímos que a associação dos achados hematológicos, principalmente os de leucograma, com sinais clínicos, poderá facilitar o estabelecimento do diagnóstico desta condição mórbida

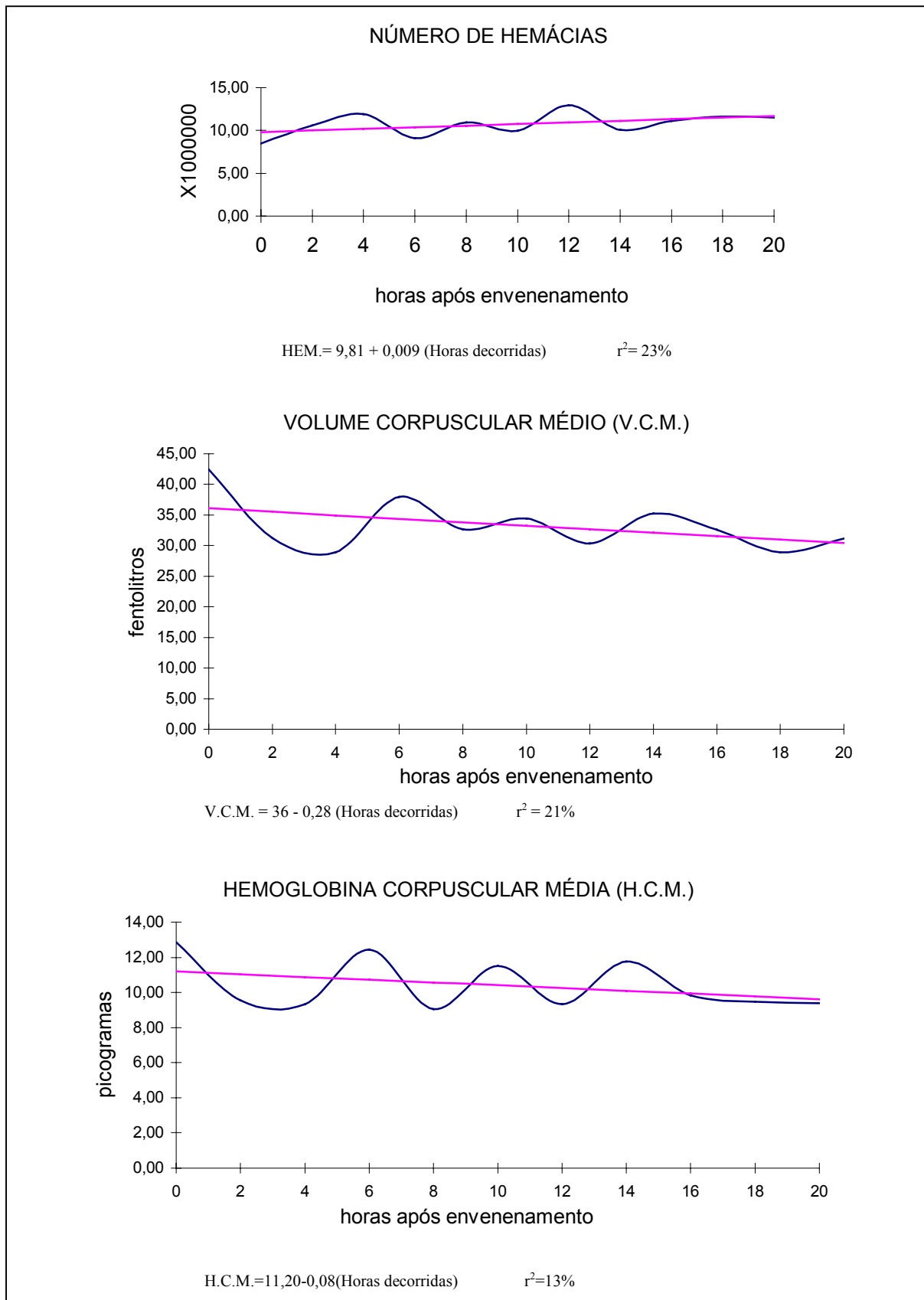


Figura 1: Comportamento do número de hemácias, do volume corpuscular médio (V.C.M.) e da hemoglobina corpuscular média (H.C.M.) de bovinos submetidos ao envenenamento crotálico experimental.

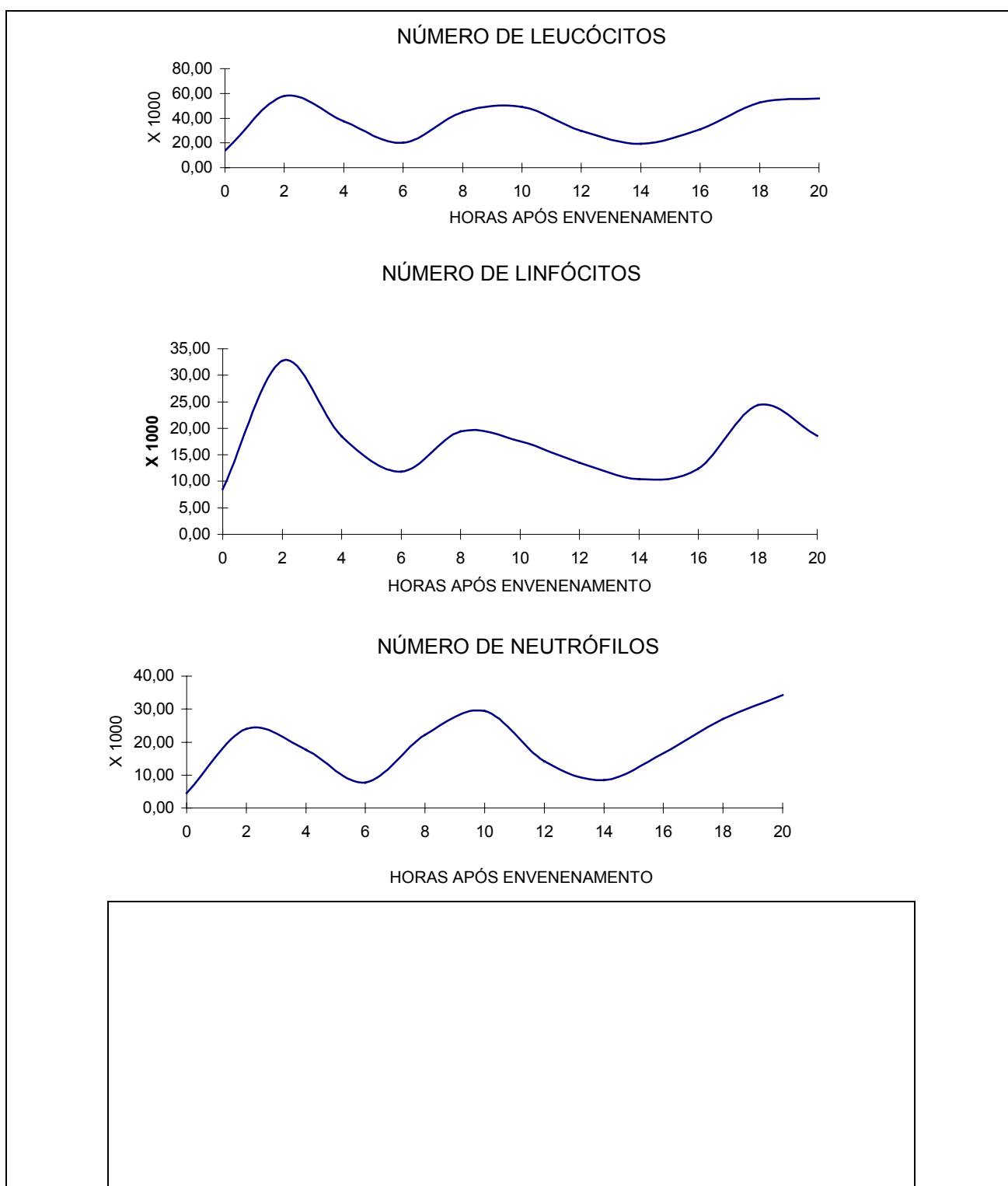


Figura 2: Comportamento dos números de leucócitos totais, de linfócitos, de neutrófilos e de monócitos de bovinos submetidos ao envenenamento crotálico experimental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, P. *et al.* Toxicidade de venenos ofídicos III - Resistência dos porcos aos venenos ofídicos. **Arq. Inst. Biológico**, v. 30, p. 49-56, 1963b.
- AZEVEDO-MARQUES, M.M. *et al.* Myonecrosis, myoglobinuria and acute renal failure induced by South American rattlesnake (*durissus terrificus*) envenomation in Brazil. **Toxicon**, n, 213, p. 631-636, 1985.
- AZEVEDO-MARQUES, M.M. *et al.* Rattlesnake bites. Clinical features and complementary tests. **Mem. Inst. Butantan**, v. 52, supl, p. 27-30, 1990.
- BARRAVIERA, B. *et al.* Liver dysfunction in patients bitten By *Crotalus durissus terrificus* (Laurenti, 1768) snakes in Botucatu (State of São Paulo, Brasil), **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 37, n. 1, p. 63-69, 1995.
- BELLUOMINI, H.E. **Ensaio soroterápicos no envenenamento crotálico experimental em bovinos**. São Paulo, 1972. Tese (Doutorado) - **Inst. Cien. Biomédicas - U.S.P.**, 1972.
- BERCOVICI, D. *et al.* A systematic fractionation of *Crotalus durissus terrificus* venom. **Mem. Inst. Butantan**, v. 49, n. 3, p. 69-78, 1987.
- BISSHOP, C.R. *et al.* Leukokinetic studies XIII. A non-steady-state kinetic evaluation of the mechanism of cortisone-induced granulocytosis. **J. Clin. Invest.**, n. 47, p. 249-260, 1968.
- BRASIL, V. ; PESTANA, B.R. Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico V. Ação fisiologica. **Rev. Med. São Paulo**, v. 12, p. 415-425, 1909.
- CHIPPAUX, J.P. *et al.* Snake venom variability: Methods os study, results and interpretation. **Toxicon**, v. 29, n. 11, p. 1279-1303, 1991.
- DOIG, A. *et al.* Response of megaloblastic anaemia to prednisolon. **Lancet**, v. 2, p. 966-972, 1957.
- FAUCI, A.S. ; DALE, D.C. The effect of *in vivo* Hydrocortizone on sub populations of human lymphocytes. **J. Clin. Invest**, v. 53, p. 240-246, 1974.
- FERREIRA NETO, J.M *et al.* **Patologia clínica veterinária**. Belo Horizonte: Raleco e Brasil, 1977. 293 p.
- GILMAN, A.G. *et al.* **As bases farmacológicas da terapêutica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1983. 1599 p.
- HARPER, H.A. **Manual de química fisiológica**. 5. ed. São Paulo: ATHENEU, 1977. 601 p.
- HUDELSON, S. ; HUDELSON, P. Pathophysiology of snake envenomization and evaluation of treatments-part I. **Comp. Contin. Educ. Pract. Vet.**; v. 17, n. 7, p. 889-896, 1995a.
- HUDELSON, S. ; HUDELSON, P. Pathophysiology of snake envenomization and evaluation of treatments-part II. **Comp. Contin. Educ. Pract. Vet.**; v. 17, n. 8, p. 1035-1040, 1995b.
- HUDELSON, S. ; HUDELSON, P. Pathophysiology of snake envenomization and evaluation of treatments-part III. **Comp. Contin. Educ. Pract. Vet.**; v. 17, n. 11, p. 1385-1394, 1995c.
- JORGE, M.T. ; RIBEIRO, L.A. Epidemiologia e quadro clínico do acidente por cascavel Sul-Americana (*Crotalus durissus*). **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 34, n. 4, p. 347-354, 1992.
- JORGE, M.T. ; RIBEIRO, L.A. Incoagulabilidade sanguínea no acidente crotálico. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 21, supl, p. 121, 1988.
- LAGO, L. A. **Avaliação clínica e laboratorial de bovinos submetidos ao envenenamento crotálico experimental - *Crotalus durissus terrificus* - Laurenti, 1768 - crotamina positivo**. Belo Horizonte- MG., 1996. 85p.Tese (Mestrado em Medicina Veterinária)- Curso de Pós- Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 1996.
- MAGALHÃES, R.A. *et al.* Rabdomiólise secundária a acidente ofídico crotálico (*Crotalus durissus terrificus*). **Rev. Med. Trop. São Paulo**, v. 28, n. 4, p. 228-233, 1986.
- MANDELBAUM, F. R. Snake venom hemorrhagins. **Mem. Inst. Butantan**,v.52,supl, p35-36, 1990.
- RIBEIRO, L. A . Epidemiology of ophidic accidents. **Mem. Inst. Butantan**,v.52, supl, p.15-16, 1990.
- ROSENFELD, G. ; BELLUOMINI, H. E. Quantidade de veneno encontrada em serpentes venenosas do Brasil. Dados comparativos para avaliação da mortalidade humana. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 1, 1960, Rio de Janeiro. **Anais ... Guanabara**, , 1960.
- ROSENFELD, G. Moléstias por venenos animais. **Pinheiros Terapêuticos**,v.17, n. 84, p. 3-15, 1965.
- SGARBI, L.P.S. *et al.* Human envenomations due to snakebites in Marília, state of São Paulo, Brazil. A retrospective epidemiological study. **J. Venom. Anim. Toxins**, v. 2, p. 70-78, 1995.
- SMITH, T .A. ; FIGGE, H .L. Treatment of snakebite poisoning. **Am. J. Hosp. Pharm.**, v. 48, n. 10, p. 2190-2196, 1991.
- SNEDECOR, G.M. ; COCHRAN, W.G. **Statiscal methods**. 6 ed. Ames: the Iowa State University Press, 1967. 580 p