

## AValiação DE DIFERENTES TRATAMENTOS SOBRE AS ALTERAÇÕES HEMOSTÁTICAS APÓS ENVENENAMENTO BOTRÓPICO (*Bothrops alternatus*) EXPERIMENTAL EM CÃES

### ASSESSMENT OF DIFFERENT TREATMENTS ON HEMOSTATIC ALTERATIONS AFTER EXPERIMENTAL BOTROPIC ENVENOMING (*Bothrops alternatus*) IN DOGS

Manuela Maria Barbosa dos SANTOS<sup>1</sup>; Marília Martins MELO<sup>2</sup>; Denise Oliveira JÁCOME<sup>1</sup>; Keila Margarida FERREIRA<sup>3</sup>; Neide Judith F. OLIVEIRA<sup>4</sup>; Fernando ALZAMORA FILHO<sup>5</sup>

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do soro antibotrópico, da flunixinina meglumina e do extrato aquoso de *Curcuma longa* (10%) sobre as alterações hemostáticas observadas no envenenamento botrópico em cães. Foram utilizados 12 cães adultos, sem raça definida, inoculados com 0,3mg/kg do veneno, via IM, na face caudal da coxa esquerda, tratados 2 horas após o envenenamento, divididos em três grupos de 4 animais, sendo: Grupo I- soro antibotrópico diluído em solução fisiológica de NaCl a 0,9%, em dose única, suficiente para neutralizar 0,3mg/kg do veneno; Grupo II- flunixinina meglumina, na dose de 1,1mg/kg, via IM, uma vez ao dia, por 5 dias; Grupo III- extrato aquoso de *Curcuma longa* (10%), tópica no local da injeção do veneno, 3 vezes ao dia, por cinco dias. A análise dos resultados revelou aumento ( $p < 0,05$ ) do tempo de protrombina, e tempo de tromboplastina parcial ativada nos grupos I, II e III em relação ao momento controle; diminuição da concentração de fibrinogênio nos grupos II e III; diminuição na contagem de plaquetas nos grupos I e II e aumento do tempo de coagulação nos grupos II e III. Os resultados indicam a importância da aplicação do soro antibotrópico para a reversão das alterações hemostáticas induzidas pelo veneno botrópico.

**UNITERMOS:** Hemostasia, *Bothrops*, Cão.

## INTRODUÇÃO

O veneno de todas as serpentes do gênero *Bothrops* possui atividade edematogênica, proteolítica, miotóxica, desfibrinante, hemorrágica e hemolítica indireta. Ele pode agir em pontos diversos do mecanismo hemostático e com intensidade variável, dependendo da espécie da serpente e da dose do veneno (FAMADAS, 1979; FRANCESCHI, 1990; SANCHEZ et al., 1992). O veneno botrópico produz mudanças no mecanismo hemostático e causa danos sobre os vasos sanguíneos interferindo sobre as funções plaquetárias, fatores de coagulação como protrombina (Fator II), Fator X e fibrinogênio (Fator I) (SANO-MARTINS, 1990; ROODT et al., 1996; MARKLAND, 1998; SMOLKA et al., 1998).

Schvartsman (1992) e Viana (1983) avaliaram a eficácia do corticoide local e sistêmico na terapêutica do envenenamento botrópico, não sendo observado efeito satisfatório deste na evolução do edema e necrose local. Novaes et al. (1997) testaram o efeito da flunixinina meglumina, antiinflamatório não esteroide, associado a diurético, como medicação opcional para tratamento do envenenamento botrópico em bovinos e obtiveram os seguintes índices de sobrevivência: 100% para os animais inoculados com venenos das espécies *B. jararacussu* e *B. moojeni*, 66% para *B. neuwiedi*. Não houve sobrevivência dos animais inoculados com os venenos de *B. jararaca* e *B. alternatus*. Muitas espécies de plantas utilizadas na medicina tradicional brasileira têm demonstrado possuir substâncias que protegem o homem

<sup>1</sup> Mestre em Clínica e Cirurgia Veterinárias, Universidade Federal de Minas Gerais

<sup>2</sup> Professora Doutora, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Universidade Federal de Minas Gerais

<sup>3</sup> Bolsista Iniciação Científica / CNPq

<sup>4</sup> Doutoranda, Clínica e Cirurgia Veterinárias, Universidade Federal de Minas Gerais

<sup>5</sup> Mestrando, Clínica e Cirurgia Veterinárias, Universidade Federal de Minas Gerais

Received: 09/08/02

Accept: 11/02/03

e os animais contra venenos de serpentes. Dentre essas, a *Curcuma longa* é uma das mais importantes na atualidade por terem sido isolados de seus rizomas várias substâncias, como a curcumina e o ar-turmerone (MANGALAKUMARI e MATHEW, 1986; FERREIRA et al, 1992; SOUZA, 1993; OLIVEIRA e AKISUE, 1998; MORS et al., 2000). O uso de plantas no tratamento de acidentes por serpentes já foi reconhecido há bastante tempo, mas somente nos últimos vinte anos tem merecido atenção científica. Sendo assim, pouco se conhece da atividade dos compostos químicos identificados nessas plantas, e, menos ainda, do possível mecanismo de ação desses compostos (MORS et al., 2000). Devido à escassez de estudos clínicos para avaliar a eficácia de distintos fármacos na redução dos danos ocasionados pelo envenenamento botrópico e suas conseqüências físicas e sociais, este trabalho tem por objetivo avaliar a influência de diferentes tratamentos: soro antibotrópico, flunixin meglumina e extrato aquoso de *Curcuma longa* a 10%, sobre os parâmetros hemostáticos de cães envenenados experimentalmente pela serpente *Bothrops alternatus*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 12 cães adultos, 10 machos e 2 fêmeas, sem raça definida, com peso médio de  $17,62 \pm 4,94$  kg. Os animais foram alojados nos canis do Centro Experimental de Pequenos Animais (CEPA) do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, em Belo Horizonte. Após exames clínicos e verificação de ausência de alterações que pudessem interferir com o experimento, os animais receberam uma dose de vacina sextupla<sup>1</sup> e anti-helmíntico<sup>2</sup>. Foram banhados com produto carrapaticida<sup>3</sup> e sarnicida<sup>4</sup>.

No período da realização do trabalho, receberam ração comercial<sup>5</sup>, uma vez ao dia, e água à vontade. Foram constituídos três grupos experimentais, com quatro animais cada, de acordo com o tratamento instituído:

- Grupo I: animais tratados com soro antibotrópico<sup>6</sup> diluído em solução fisiológica de NaCl a

0,9%, na dose de 1,0 ml para cada 5,0mg de veneno inoculado<sup>7</sup>, via intravenosa;

- Grupo II: animais tratados com Flunixin meglumina<sup>8</sup> na dose de 1,1mg/kg de 24/24 horas por cinco dias, via intramuscular;

- Grupo III: animais tratados com extrato aquoso de *Curcuma longa* a 10%, tópico no local da injeção do veneno, três vezes ao dia por cinco dias.

O veneno da serpente *B. alternatus*, liofilizado e refrigerado, foi diluído na proporção de 3,0mg em 1,0ml de solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%, e administrado na dose de 0,3mg/kg de peso corporal (SANTOS et al., 2000), em todos os animais, via intramuscular, na face caudal da coxa esquerda, com agulha hipodérmica (25x7). Antes da inoculação, foi realizada tricotomia e anti-sepsia local. Os tratamentos foram iniciados 2 horas após a inoculação do veneno.

As amostras de sangue foram colhidas por meio de punção das veias jugular e cefálica utilizando-se agulhas hipodérmicas (25x7) e seringas plásticas descartáveis de 5 ml. Desses, 3 ml foram acondicionados em tubos siliconizados com EDTA (sal dissódico do ácido etileno diamino tetra-acético) a 10% para avaliação da concentração de fibrinogênio, tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), outros 2 ml foram transferidos para tubos sem anticoagulante para medição do tempo de coagulação (TC) e para confecção de esfregaços para a contagem de plaquetas.

Todos os testes foram realizados antes da inoculação do veneno botrópico (T0) e após a inoculação nos seguintes tempos: 2 horas (T1), 6 horas (T2), 24 horas (T3), 30 horas (T4), sete dias (T5) e quatorze dias (T6).

O tempo de coagulação foi determinado pelo método de Lee e White (1913), o tempo de protrombina medido, utilizando-se o kit comercial SOLUPLASTIN<sup>9</sup>, pela metodologia de Quick modificada e o tempo de tromboplastina parcial ativada, utilizando-se o kit comercial APTTest<sup>9</sup>. A concentração de fibrinogênio foi determinada pela metodologia de Ratnoff e Menzie modificada<sup>10</sup> e a contagem de plaquetas pelo método indireto descrito por Matos e Matos (1981).

<sup>1</sup> Tissuvax 6 – Coopers Brasil LTDA.

<sup>2</sup> Endal – Shering Plough, Indústria Brasileira.

<sup>3</sup> Butox – Hoeschst Roussel Vet. – Brasil.

<sup>4</sup> Sabão Sarnasol – Shering Plough, Indústria Brasileira.

<sup>5</sup> Socil Guyomarc'h, Royal Canin – Brasil.

<sup>6</sup> Soro antibotrópico – Fundação Ezequiel Dias (FUNED), BH-MG – Brasil.

<sup>7</sup> Dose correspondente a capacidade mínima de neutralização do soro antibotrópico utilizado.

<sup>8</sup> Banamine – Shering Plough, Indústria Brasileira.

<sup>9</sup> Wiener Laboratórios S.A.I.C, Argentina.

<sup>10</sup> Rotina do laboratório de patologia clínica do departamento de clínica da Escola de Veterinária da UFMG

Os resultados obtidos foram delineados em parcelas subdivididas e analisados, utilizando-se o método estatístico “t” de *Student* para comparação de médias, com índice de significância  $p < 0,05$  (SAMPAIO, 1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstraram queda significativa ( $p < 0,05$ ) na contagem de plaquetas em relação ao T0 (momento controle) para os grupos I e II.

Observou-se, também, no grupo III, uma diminuição na contagem de plaquetas, porém sem significado estatístico (Tabela 1). Os valores mais baixos da contagem de plaquetas, para todos os grupos, foram obtidos em T3 e T4, tendo sido observados valores médios inferiores aos considerados normais (200.000-500.000 plaquetas/ $\mu$ l) para cães, segundo Jain (1993). Os grupos II e III apresentaram valores inferiores à 100.000 plaquetas/ $\mu$ l, no tempo T4 (Tabela 1).

**Tabela 1:** Valores médios da contagem de plaquetas/ $\mu$ l de 12 cães, antes e após envenenamento botrópico experimental, submetidos a diferentes tratamentos.

Tempo Grupo	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
I	258,38 (Ba)	160,60 (ABa)	183,35 (ABa)	113,90 (Aa)	125,55 (Aa)	183,00 (ABa)	427,58 (Ca)
II	314,78 (CDEa)	265,33 (CDa)	212,05 (BCa)	135,23 (ABa)	51,33 (Aa)	345,80 (DEab)	413,38 (Ea)
III	205,08 (ABa)	199,90 (ABa)	145,98 (ABa)	110,60 (Aa)	77,28 (Aa)	413,40 (Ca)	273,53 (Ba)

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os tempos dentro de cada grupo ( $p < 0,05$ ).

Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os grupos para cada tempo ( $p < 0,05$ ).

Embora a trombocitopenia estivesse presente em todos os animais, apenas um cão do grupo III apresentou petéquias e equimoses na mucosa oral. De acordo com Jain (1993), as alterações clínicas só se manifestam quando a contagem de plaquetas atinge valores inferiores a 50.000/ $\mu$ l.

Não foram observadas diferenças entre os grupos quanto à contagem de plaquetas, apesar de ser evidente a queda mais pronunciada nos animais do grupo II e III, que no grupo I, tratado com soro antitrotópico. Trinta horas após o envenenamento, os valores médios ainda não haviam retornado aos valores considerados normais.

O dano aos vasos sangüíneos desencadeia uma rápida resposta dos componentes hemostáticos para cessar a hemorragia. Esses componentes são: a integridade da parede dos vasos, as plaquetas circulantes (devido às suas propriedades adesiva e agregante) e os fatores de coagulação (que levam à formação de coágulo de fibrina). Para evitar-se excesso de tecido cicatricial, o coágulo é removido pela enzima fibrinolítica (plasmina). Em situações onde qualquer um destes componentes estão alterados, a hemostasia é comprometida, resultando em sangramento. A primeira ação das plaquetas sobre o vaso lesado é a adesão ao subendotélio exposto mediado por proteínas adesivas, o Fator de von Willebrand e o

colágeno. O encontro dessas proteínas adesivas estimulam as plaquetas a secretar seus componentes granulares, em particular o ADP (KAMIGUTI et al., 1991b, 1994, 1996). Diante disso, a tendência ao sangramento, observado no envenenamento botrópico, não parece ser causado apenas por lesão vascular, distúrbios da coagulação e contagens baixas de plaquetas, mas as alterações na sua função parecem contribuir (SCHALM et al., 1975; LITTLEWOOD, 1986; JAIN, 1993; SANO-MARTINS et al., 1997).

Além da queda do número de plaquetas, houve diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) nos níveis de fibrinogênio em relação ao T0 (momento controle) nos grupos II e III. Foi observada diferença significativa desses grupos em relação ao grupo I no T4 (Tabela 2). A queda nos níveis de fibrinogênio deve-se ao consumo causado pela ação “tipo-trombina” do veneno botrópico (FAMADAS, 1979; NAHAS et al., 1979; PIRKLE; STOCKER, 1991; SANTORO; SANO-MARTINS, 1993; ZAGANELLI et al., 1996). Essa fração, “tipo-trombina”, foi isolada do veneno de *B. alternatus* por Smolka et al. (1998). O fibrinogênio é usado para avaliação da recuperação do acidentado no envenenamento botrópico. Duas horas após a inoculação do veneno de *B. alternatus* foi observada queda dos níveis plasmáticos de fibrinogênio, sendo os menores valores observados para os animais do grupo II.

**Tabela 2:** Valores médios do fibrinogênio (mg/dl) de 12 cães, antes e após envenenamento botrópico experimental, submetidos a diferentes tratamentos.

Tempo Grupo	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
I	835,00 (Aa)	707,50 (Aab)	655,00 (Aa)	627,50 (Ab)	717,50 (Ab)	1137,50 (Ba)	845,00 (Aa)
II	775,00 (Ca)	495,50 (ABa)	750,00 (BCa)	287,50 (Aa)	302,50 (Aa)	1210,00 (Da)	700,00 (BCa)
III	990,00 (Ca)	807,50 (BCb)	717,50 (Ba)	432,50 (Aab)	432,50 (Aa)	1035,00 (Ca)	955,00 (BCa)

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os tempos dentro de cada grupo ( $p < 0,05$ ).

Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os grupos para cada tempo ( $p < 0,05$ ).

Os grupos II e III se diferenciaram significativamente do grupo I em relação ao TC, mostrando que o soro antitotrópico, na dose e via administradas, é capaz de antagonizar os efeitos sistêmicos causados pelo veneno (KOCHOLATY et al, 1968; LAING et al, 1992; VIANA, 1983; SOERENSEN et al, 1993; CHIPPAUX; GOYFFON, 1998). Observou-se aumento significativo ( $p < 0,05$ ) do TC, para valores acima dos considerados normais (3-13 minutos) para o método de Lee e White (1913), a partir de T1 para o grupo II, e a partir de T2 para o grupo III, permanecendo

alterados até T4 (Tabela 3). O grupo I não apresentou aumento significativo do TC nos diferentes tempos de coleta, sendo o maior valor observado em T3 (Tabela 3). Os valores do TC obtidos no momento controle (T0) estavam entre os citados por Jain (1993) para o método de Lee e White (1913). A incoagulabilidade observada se deve à atividade “tipo-trombina” dos venenos botrópicos, citada anteriormente, e, como proposto por diversos autores, o TC é um indicador do envenenamento sistêmico por serpentes deste gênero.

**Tabela 3:** Valores médios do tempo de coagulação – TC (minutos) de 12 cães, antes e após envenenamento botrópico experimental, submetidos a diferentes tratamentos.

Tempo Grupo	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
I	4,02 (Aa)	10,07 (Aa)	11,43 (Aa)	16,86 (Aa)	8,92 (Aa)	5,05 (Aa)	3,93 (Aa)
II	4,13 (Aa)	35,25 (Bb)	60,00 (Cb)	56,18 (Cb)	35,30 (Bb)	2,36 (Aa)	2,93 (Aa)
III	5,02 (Aa)	11,31 (Aa)	50,11 (Bb)	51,53 (Bb)	45,75 (Bb)	2,69 (Aa)	4,89 (Aa)

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os tempos dentro de cada grupo ( $p < 0,05$ ).

Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os grupos para cada tempo ( $p < 0,05$ ).

Os TP e TTPA apresentaram-se significativamente prolongados ( $p < 0,05$ ) a partir de T1 até T4 nos três grupos (Tabelas 4 e 5). Os TP e TTPA obtidos no momento controle (T0) em todos os grupos foram superiores aos considerados normais (TP:6,4-7,4 segundos, TTPA:9-11 segundos) por Jain (1993), assim como o observado por Takahira (1999), devendo-se ressaltar a importância do uso de valores de referência

próprios ou o uso de animais controle. A incoagulabilidade observada nos TP e TTPA devem-se, provavelmente, às frações do veneno botrópico que promovem ativação do Fator X e da protrombina (MARKLAND, 1998), demonstrando a ação do veneno sobre outros fatores da cascata de coagulação, que não o fibrinogênio. Apesar da ativação desses fatores levar à geração de trombina endógena, o resultado final é o consumo do fibrinogênio.

**Tabela 4:** Valores médios do tempo de protrombina – TP (segundos) de 12 cães, antes e após envenenamento botrópico experimental, submetidos a diferentes tratamentos.

Tempo Grupo	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
I	11,35 (Aa)	95,00 (Bab)	96,91 (Ba)	120,00 (Ba)	95,19 (Ba)	14,68 (Aa)	15,38 (Aa)
II	12,41 (Aa)	120,00 (Bb)	120,00 (Ba)	120,00 (Ba)	120,00 (Ba)	15,09 (Aa)	13,18 (Aa)
III	14,08 (Aa)	72,62 (Ba)	120,00 (Ca)	120,00 (Ca)	120,00 (Ca)	36,24 (Aa)	16,56 (Aa)

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os tempos dentro de cada grupo ( $p < 0,05$ ).

Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os grupos para cada tempo ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 5:** Valores médios do tempo de tromboplastina parcial ativada- TTPA (segundos) de 12 cães, antes e após envenenamento botrópico experimental, submetidos a diferentes tratamentos.

Tempo Grupo	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
I	50,81 (Aa)	120,00 (Ba)	120,00 (Ba)	120,00 (Ba)	120,00 (Ba)	46,82 (Aa)	36,42 (Aa)
II	52,84 (Aa)	120,00 (Ba)	120,00 (Ba)	120,00 (Ba)	120,00 (Ba)	38,27 (Aa)	39,08 (Aa)
III	58,05 (Aa)	112,50 (Da)	120,00 (Da)	120,00 (Da)	120,00 (Da)	79,83 (Cb)	37,38 (Ba)

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os tempos dentro de cada grupo ( $p < 0,05$ ).

Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os grupos para cada tempo ( $p < 0,05$ ).

Segundo Pérez et al. (1997), os testes de coagulação, como o TTPA e TP, demonstram boa correlação com a severidade do envenenamento. Os animais do grupo I apresentaram recuperação das alterações hemorrágicas após a soroterapia, confirmando ser esse o único tratamento de eficácia comprovada, até o momento, para as alterações sistêmicas do envenenamento botrópico (VIANA, 1983; TAKAHIRA, 1999).

A flunixinina meglumina é um antiinflamatório não esteroide, derivada do ácido nicotínico, utilizada pelas suas propriedades analgésica, antiinflamatória e antipirética. Seu mecanismo de ação consiste na prevenção da síntese de prostaglandinas por inibição da ciclooxigenase durante o período de irritação ou lesão celular, tendo como consequência a inibição dos eicosanoides envolvidos na inflamação (ISAACS, 1996). É indicada por alguns autores como medicação no envenenamento botrópico visando a inibição das alterações locais provocadas pelo veneno (edema e necrose), no entanto, não possui efeito benéfico sobre os distúrbios hemostáticos.

A *Curcuma longa*, popularmente conhecida como açafrão, possui substâncias como a curcumina com atividade antiinflamatória, antibiótica e antioxidante (MORS et al, 2000) e o ar-turmerone, que age como um inibidor das enzimas proteolíticas e hemorrágicas do veneno botrópico (FERREIRA et al, 1992). É também indicada para o restabelecimento das lesões locais provocadas pelo veneno botrópico, porém não demonstrou efeito satisfatório na reversão do quadro hemostático.

A coagulopatia observada em humanos e animais envenenados por *Bothrops* pode ser explicada, então, pela presença de componentes que são capazes de coagular o fibrinogênio diretamente ou ativar a protrombina e o fator X na presença de  $Ca^{++}$  e fosfolípidos, independente do fator V. Mecanismos tardios levam à geração de trombina *in vivo*, assim, fatores V e VIII são também consumidos, e trombocitopenia pode desenvolver-se (KAMIGUTI et al., 1991a).

## CONCLUSÕES

O veneno de *Bothrops alternatus* causa alterações hemostáticas em cães, caracterizadas por trombocitopenia, incoagulabilidade sangüínea e queda dos níveis de fibrinogênio. A administração do soro antibotrópico é fundamental para a neutralização destas ações do veneno e para impedir o agravamento dos sinais

sistêmicos. O tratamento com extrato aquoso de *Curcuma longa* não influenciou os parâmetros avaliados quando comparados com o tratamento com a flunixin meglumina, porém, não é indicado o uso da flunixin meglumina como tratamento complementar no envenenamento por *Bothrops alternatus* em cães, pois os animais deste grupo apresentaram os menores valores de fibrinogênio e os maiores valores de tempo de coagulação.

---

**ABSTRACT:** The aim of this study was to determine the influence of treatments with specific antivenom, flunixin meglumine and aqueous extract of *Curcuma longa* (10%) on hemostatic alterations observed on botropic envenoming in dogs. Twelve adult dogs were inoculated in the middle third of the lateral side of thigh with 0.3mg/kg of venom. The dogs were divided into three groups of four animals and the treatment was done two hours after venom inoculation: Group I- specific antivenom diluted in saline (one dosage sufficient to neutralize the venom); Group II- flunixin meglumine (1.1mg/kg, IM, once a day for five days); Group III- topical application of aqueous extract of *Curcuma longa* (10%) (three times a day for five days). The results showed increase ( $p<0.05$ ) of prothrombin time and activated partial thromboplastin time on dogs of groups I, II and III in relation to control moment; decrease of fibrinogen on dogs of groups II and III; decrease on platelet count on dogs of groups I and II and increase of coagulation time on dogs of groups II and III. The results show the importance of the treatment with specific antivenom to neutralize the hemostatic alterations caused by botropic venom.

**UNITERMS:** Hemostasis, *Bothrops*, Dog.

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHIPPAUX, J. P.; GOYFFON, M. Venoms, antivenoms and immunotherapy. **Toxicon**, v. 36, n.6, p.823-846, jun. 1998.
- FAMADAS, L. C. Alterações da hemostasia produzidas pelos venenos das serpentes. **R. Méd. Est. RJ.**, v. 2, n. 1, p. 9-13, 1979.
- FERREIRA, L. A. F.; HENRIQUES, O. B.; ANDREONI, A. A. S. et al. Antivenon and biological effects of ar-turmerone isolated from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). **Toxicon**, v. 30, n. 10, p. 1211-1218, 1992.
- FRANCESCHI, J. P. Systemic activities of bothropic venoms. **Mem. Inst. Butantan**, v. 52, p. 41-42, 1990. Suplemento.
- ISAACS, J. P. Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the dog and cat. **Aust. Vet. Practit.** v. 26, n. 4, p. 180-187, 1996.
- JAIN, Nemi C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.
- KAMIGUTI, A. S.; CARDOSO, J. L. C.; THEAKSTON, R. D. G.; SANO-MARTINS, J. S.; HUTTON, R. A.; RUGMAN, F. P.; WARRELL, D. A.; HAY, C. R. M. Coagulopathy and haemorrhage in human victims of *Bothrops jararaca* envenoming in Brazil. **Toxicon**, v. 29, n. 8, p. 961-972, 1991a.
- KAMIGUTI, A. S.; HAY, C. R. M.; THEAKSTON, R. D. G.; ZUZEL, M. Review Article. Insights into the mechanism of haemorrhage caused by snake venom metalloproteinases. **Toxicon**, v. 34, n. 6, p. 627-642, 1996.

KAMIGUTI, A. S.; SLUPSKY, J. R.; ZUZEL, M.; HAY, C. R. M. Properties of fibrinogen cleaved by jararhagin, a metalloproteinase from the venom of **Bothrops jararaca**. **Thromb. Haemost.**, v. 72, n. 2, p. 244-249, 1994.

KAMIGUTI, A. S.; THEAKSTON, R. D. G.; DESMOND, H.; HUTTON, R. A. Systemic haemorrhage in rats induced by haemorrhagic fraction from **Bothrops jararaca venom**. **Toxicon**, v. 29, n. 9, p. 1097-1105, 1991b.

KOCHOLATY, W. F.; BILLINGS, T. A.; ASHLEY, B. D.; LEDFORD, E. B.; GOETZ, J. C. Effect of the route of administration on the neutralizing potency of antivenins. **Toxicon**, v. 5, p. 165-170, 1968.

LAING, G. D.; THEAKSTON, R. D. G.; LEITE, R. P.; DIAS DA SILVA, W. D.; WARRELL, D. A.; BIASG. Comparison of the potency of three brazilian *Bothrops* antivenoms using *in vivo* rodent and *in vitro* assays. **Toxicon**, v. 30, n. 10, p. 1219-1225, 1992.

LEE, R. J.; WHITE, P. O. A clinical study of the coagulation time of blood. **American J. Medical Science**. v. 145, p. 495-503, 1913.

LITTLEWOOD, J. D. A practical approach to bleeding disorders in dog. **J. Small Anim. Pract.**, v. 27, p. 397-409, 1986.

MANGALAKUMARI, C. K.; MATHEW, A. G. Localization of significant constituents of turmeric. **J. Food Sci. Tech.**, v. 23, p.93-96, 1986.

MARKLAND, F. S. Review paper. Snake venoms and the hemostatic system. **Toxicon**, v. 36, n. 12, p. 1749-1800, 1998.

MATOS, M. S.; MATOS, P. F. **Laboratório clínico médico veterinário**. Salvador: Arco-Íris, 1981. 320p.

MORS, W. B.; NASCIMENTO, M. C.; PPEREIRA, B. M. R.; PEREIRA, N. A. Plant natural products active against snake bite – the molecular approach. **Phytochemistry**, n. 55, p. 627-642, 2000.

NAHAS, L; KAMIGUTI, A. S.; BARROS, M. A. R. Thrombin-like and Factor X-Activator components of *Bothrops* snake venoms. **Thrombos. Haemostas.**, v. 41, p. 314-328, 1979.

NOVAES, A. P.; LUCAS, S.; ABE, A. S. et al. Envenenamento botrópico em bovinos: tratamento opcional. **Vet news**, n. 30, p. 9-12, 1997.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de farmacobotânica**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1998. 178p.

PÉREZ, O. C. A.; KOSCINCZUK, P.; FLINTA, S. M.; MAIDANA, H. R.; NEGRETE, M. S. *Bothrops alternatus* envenoming in young dogs. **J. Venom. Anim. Toxins**, v. 3, n. 1, p. 43-47, 1997.

PIRKLE, H.; STOCKER, K. Thrombin-like enzymes from snake venoms: an inventory. **Thrombos. Haemostas.**, v. 65, n. 4, p. 444-450, 1991.

ROODT, A. R.; DOLAB, J. Á.; SEGRE, L. Fisiopatología y diagnóstico del ataque por serpientes venenosas: una breve actualización. **Rev. Med. Vet.**, v. 77, n. 1, p. 64-71, 1996.

SAMPAIO, Ivan Barbosa Machado. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.

SANCHEZ, E. F.; FREITAS, T. V.; FERREIRA-ALVES, D. L.; VELARDE, D. T.; DINIZ, M. R.; CORDEIRO, M. N.; AGOSTINE-COTTA, G.; DINIZ, C. R. Biological activities of venoms from south american snakes. **Toxicon**, v. 30, n. 1, p. 95-103, 1992.

SANO-MARTINS, I. S. Hematological disturbances induced by *Bothrops* venom. **Mem. Inst. Butantan**, v. 52, p. 39-40, 1990 (Suplemento).

SANO-MARTINS, I. S.; SANTORO, M. L.; CASTRO, S. C. B.; FAN, H. W.; CARDOSO, J. L. C.; THEAKSTON, D. G. Platelet aggregation in patients bitten by the brazilian snake **Bothrops jararaca**. **Thrombosis Research**, v. 87, n. 2, p. 183-195, 1997.

SANTORO, M. L.; SANO-MARTINS, I. S. Different clotting mechanisms of *Bothrops jararaca* snake venom on human and rabbit plasmas. **Toxicon**, v. 31, n. 6, p. 733-742, 1993.

SANTOS, E. P.; RESENDE, E. S.; SILVEIRA, P. V. P.; FAGUNDES, D. J. Efeitos do soro antibotrópico nas alterações hemodinâmicas induzidas em cães pelo veneno de *Bothrops moojeni*. **Acta Cir. Bra.**, v. 15, n. 1, p. 1-13, 2000.

SCHALM, O. W.; JAIN, N. C.; CARROLL, E. J. **Veterinary hematology**. 3. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1975. 807p.

SCHVARTSMAN, S. **Plantas venenosas e animais peçonhentos**. São Paulo: Sarvier, 1992. 288p.

SMOLKA, M. B.; MARANGONI, S.; OLIVEIRA, B.; NOVELLO, J. C. Purification and partial characterization of a thrombin-like enzyme balterobin, from the venom of *Bothrops alternatus*. **Toxicon**, v. 36, n. 7, p. 1059-1063, 1998.

SOERENSEN, B.; BADIZ, F. P.; CHRISTOVÃO, F. G.; SZABO, A.; BADINI, K. B.; VIEIRA, V.; SANTOS, R. V.; MOREIRA, M. B.; SILVA, R. M. A.; JUNIOR, W. R.; MIRANDA, J. M.; ANTUNES, R.; PERES, J. A.; COELHO, R. M. Importância da urgência na soroterapia dos acidentes por animais peçonhentos – estudo experimental em camundongos. **Unimar Ciências**, v.2, p.25-29, 1993.

SOUZA, C. R. A. **Cúrcuma**: caracterização, extração e estabilidade. 1993. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais, 1993.

TAKAHIRA, Regina Kiomi. **Perfil hematológico, hemostático, bioquímico e histopatológico do envenenamento experimental de cães por *Bothrops alternatus* Duméril, 1854 e *Bothrops moojeni* Hoge. 1966. 1999. 195f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, São Paulo.**

VIANA, José Antonio. **Efeito da dexametasona sobre a necrose experimental causada pelo veneno botrópico em cães (*Bothrops moojeni*, HOGE, 1965)**. 1983. 29f. Dissertação (Mestrado em Clínica e Cirurgia Veterinárias) – Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ZAGANELLI, G. L.; ZAGANELLI, M. G. M.; MAGALHÃES, A.; DINIZ, C. R.; LIMA, M. E. Purification and characterization of a fibrinogen-clotting enzyme from the venom of jararacuçu (*Bothrops jararacussu*). **Toxicon**, v. 34, n. 7, p. 807-819, 1996.