

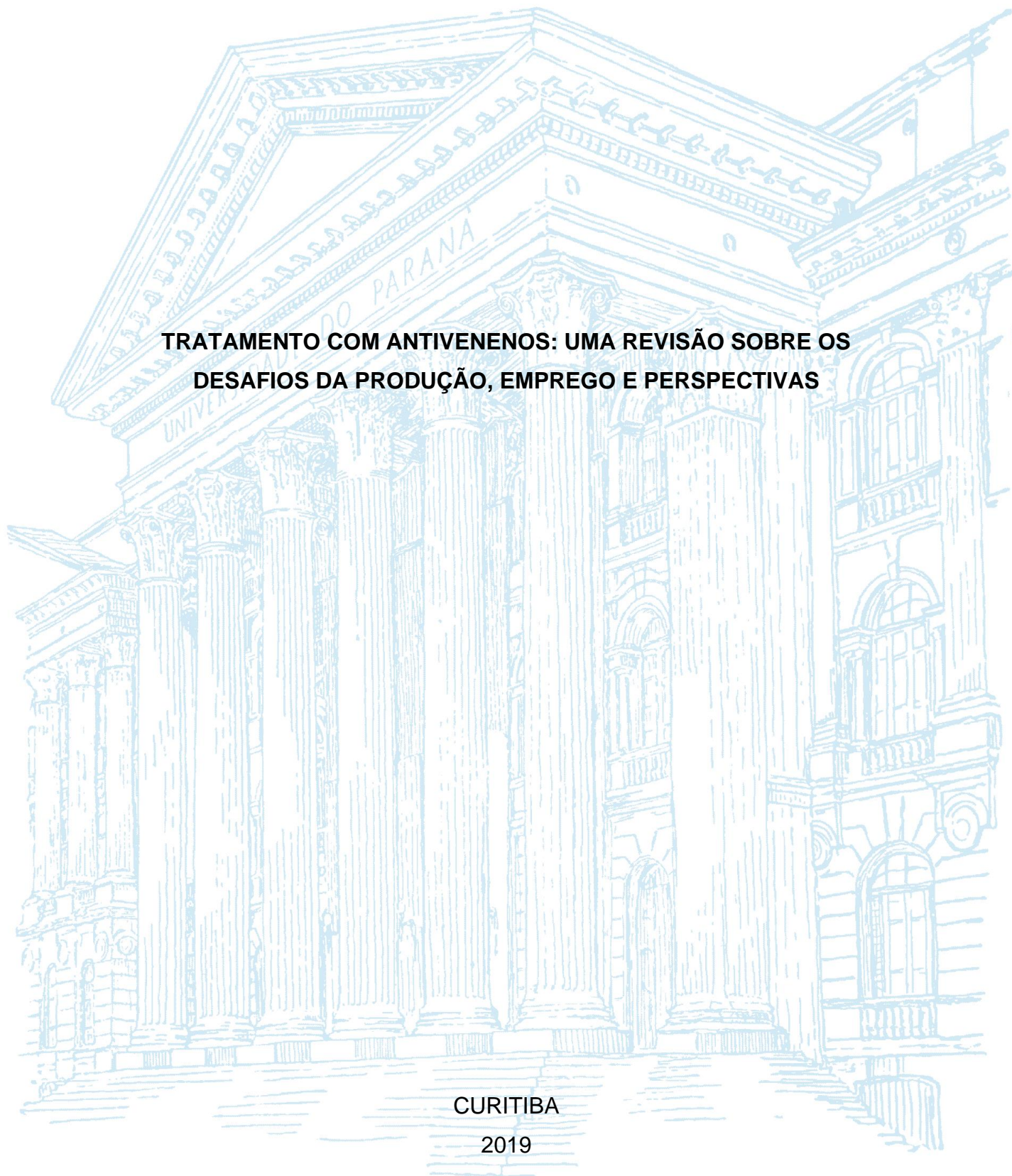
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALINE APARECIDA SANTANA

**TRATAMENTO COM ANTIVENENOS: UMA REVISÃO SOBRE OS
DESAFIOS DA PRODUÇÃO, EMPREGO E PERSPECTIVAS**

CURITIBA

2019



ALINE APARECIDA SANTANA

**TRATAMENTO COM ANTIVENENOS: UMA REVISÃO SOBRE OS
DESAFIOS DA PRODUÇÃO, EMPREGO E PERSPECTIVAS**

Monografia apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel, Curso de Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Professora Doutora Larissa Magalhães Alvarenga

CURITIBA

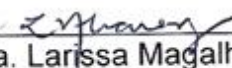
2019

TERMO DE APROVAÇÃO

ALINE APARECIDA SANTANA

TRATAMENTO COM ANTIVENENOS: UMA REVISÃO SOBRE OS DESAFIOS
DA PRODUÇÃO, EMPREGO E PERSPECTIVAS


Monografia aprovada como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel,
Curso de Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade
Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:



Profa. Dra. Larissa Magalhães Alvarenga
Orientadora - Departamento de Patologia Básica - UFPR



Profa. Dra. Juliana Ferreira de Moura
Departamento de Patologia Básica - UFPR



Profa. Dra. Alessandra Becker Finco
Pós doutorado - UFPR

Curitiba, 29 de novembro de 2019.

Aos meus pais por me apoiar, incentivar e permanecer sempre ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me guiar e ter me concedido a coragem e a persistência para concretizar o meu sonho.

Aos meus pais Teresinha e Joanival por sempre me motivar, apoiar e não me deixar desistir. Sem o seu cuidado, atenção e incentivo não conseguiria persistir e me graduar.

À minha irmã Elaine por estar sempre ao meu lado me apoiando e me aconselhado nos momentos em que mais precisei e à minha pequena e amada Helena pelos momentos de felicidade em meio às situações de cansaço.

Ao André pelo companheirismo, cumplicidade, diálogo, incentivo e apoio, sua presença em todos os momentos com certeza me fortaleceu e me encorajou grandemente.

À Fernanda e Liandra pela amizade e apoio, e à Giovanna pela amizade, incentivo, empatia e parceria durante toda a graduação.

À minha professora e orientadora Larissa pela oportunidade maravilhosa de aprender ao seu lado, pela orientação, conselhos, palavras e grande inspiração.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água do mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

Madre Tereza de Calcutá

RESUMO

São muitos os registros de acidentes envolvendo animais peçonhentos principalmente em países localizados nos trópicos. A soroterapia, apesar de ter sido descrita há mais de um século ainda é o método de tratamento mais utilizado pelos sistemas de saúde atuais. No Brasil os principais incidentes envolvem serpentes, escorpiões e aranhas, e acontecem em todas as regiões do país. Desta forma, pretendemos, nesta revisão bibliográfica discutir a utilização massiva do soro antiveneno como método de tratamento na população vítima, uma vez que este acarreta consideráveis desvantagens, como possíveis reações imunogênicas, além de uma difícil estratégia de produção, na qual são necessárias quantidades elevadas de venenos brutos, um grande número de animais para a obtenção e qualificação dos soros, e ainda assim, pode não alcançar toda a população necessitada especialmente àquelas de nacionalidade carente econômica e cientificamente. Assim, alguns estudos buscam empregar a biotecnologia para desenvolver métodos alternativos eficazes como a produção de toxinas recombinantes, anticorpos monoclonais (mAbs) e recombinantes em suas diferentes formas IgG, F(ab')₂, Fab, scFv, *diabody* e VhH. Estes anticorpos tem mostrado grande eficiência pois apresentam alta especificidade antígeno-anticorpo, arquitetura em diferentes tamanhos, regulação adequada, além de facilidade e reprodutibilidade na produção. Esta revisão vai tratar dos desafios na produção dos soros, das novas alternativas oferecidas pela engenharia molecular de proteínas e também discutir acerca das limitações econômicas sociais implicadas neste contexto.

Palavras-chave: Envenenamento por animais peçonhentos, soroterapia, toxinas recombinantes e fragmentos de anticorpos

ABSTRACT

There are lots of records of accidents involving poisonous animals especially in countries in the tropics. Even though the serotherapy has been used for over a century, nowadays is still the most used method of treatment by the main health care systems. In Brazil, the main incidents involve snakes, scorpions and spiders, and they happen in all regions of this country. Therefore, we intend in this literature review to unravel the mass use of the antivenom serum as a method of treatment, since it has considerable disadvantages, such as possible immunological reactions, as well as a difficult production strategy, in which are necessary high quantities of raw poisons, a big number of animals to the acquirement and qualification of serums, and even so, it might not reach all the needy population specially those of needy nationality economically and scientifically. Thus, some studies seek to apply the biotechnology to develop alternative effective methods such as the production of recombinant toxins, monoclonal antibodies (mAbs) and recombinants in their different forms IgG, F(ab')₂, Fab, scFv, diabody e VhH. These antibodies have shown great efficiency because they show high specificity antigen-antibody, architecture in different sizes, appropriate regulation, as well as ease and reproducibility in the production. This review will address the challenges in serum production, the new alternatives offered by molecular engineering of proteins and also discuss the social economic limitations implied in this context.

Keywords: Poisoning by poisonous animals, serotherapy, recombinant toxins and antibody fragments.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE OFIDISMO NOS PAÍSES DE MAIOR INCIDENCIA.....	18
FIGURA 2 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE ESCORPIONISMO NOS PAÍSES DE MAIOR INCIDENCIA.....	18
FIGURA 3 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE ARANEÍSMO NOS PAÍSES DE MAIOR INCIDENCIA.....	18
FIGURA 4 - JARARACA (<i>Bothrops atrox</i>).....	21
FIGURA 5 - CASCAVEL (<i>Caudisona durissa</i>).....	21
FIGURA 6 - SURUCUCU-PICO-DE-JACA (<i>Lachesis muta</i>).....	21
FIGURA 7 - CORAL-VERDADEIRA (<i>Micrurus altirostris</i>).....	21
FIGURA 8 - <i>Tityus serrulatus</i>	23
FIGURA 9 - <i>Tityus stigmurus</i>	23
FIGURA 10 - <i>Tityus bahiensis</i>	23
FIGURA 11 - <i>Tityus obscurus</i>	23
FIGURA 12 - <i>Phoneutria keyserlingi</i>	25
FIGURA 13 - <i>Loxosceles</i> (Sicariidae).....	25
FIGURA 14 - <i>Latrodectus curacaviensis</i>	25
FIGURA 15 - ESTRUTURA MOLECULAR DE UMA IMUNOGLOBULINA.....	29
FIGURA 16 - BREVE REPRESENTAÇÃO DA PRODUÇÃO DOS SOROS ANTIVENENO.....	30
FIGURA 17. PRODUÇÃO DE UMA TOXINA SINTÉTICA OU RECOMBINANTE.....	31

FIGURA 18. DIFERENTES FORMATOS DE ANTICORPOS UTILIZADOS NA CLÍNICA E EXPERIMENTALMENTE.....	36
FIGURA 19. NEUTRALIZAÇÃO POR INIBIÇÃO DIRETA.....	37
FIGURA 20. NEUTRALIZAÇÃO POR INIBIÇÃO ALOSTÉRICA.....	38

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - RELAÇÃO DO TRATAMENTO COM SORO ANTIVENENO POR CASO.....	27
--	----

LISTA DE SIGLAS

α -LTX - α -Latrotoxina

3FTx - Toxina de três dedos

AAR - Resposta anti-anticorpo

CAPs - Proteínas Secretoras Ricas em Cisteína e Antígeno 5

CH - Região constante de cadeia pesada

CL - Região constante de cadeia leve

DBPS - Peptídeos com ponte dissulfeto

HAMA - *human anti-mouse antibody*

ICK - Inibidores de nó de cisteína (*Inhibitor Cysteine Knot*)

mAbs - Anticorpos monoclonais

Mlat1 - Neurotoxinas ricas em cisteína

Nbs - *Nanobodies*

NDBPs - Peptídeos sem ponte dissulfeto

PLA₂ - Fosfolipases A₂

PLDs - Fosfolipases-D

SAAr - Soro antiaracnídico

SAB - Soro antibotrópico

SABC - Soro antibotrópico-crotálico

SABL - Soro antibotrópico-laquétrico

SAE - Soro antielapídico

SAEEs - Soro antiescorpiônico

SAL - Soro antilaquétrico

SALatr - Soro antilatrodéctico

SVMPs - Serina-proteinases

SVSPs - Metaloproteinases

TCTPs - Proteínas tumorais translacionalmente controladas

VH - Região variável de cadeia pesada

VL - Região variável de cadeia leve

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. OBJETIVO	17
2. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA	17
3. OFIDISMO	19
3.1. OFIDISMO BOTRÓPICO.....	19
3.2. OFIDISMO CROTÁLICO	19
3.3. OFIDISMO LAQUÉTICO	20
3.4. OFIDISMO ELAPÍDICO	20
4. ESCORPIONISMO	21
4.1. <i>Tityus serrulatus</i>	22
4.2. <i>Tityus stigmurus</i>	22
4.3. <i>Tityus bahiensis</i>	22
4.4. <i>Tityus obscurus</i>	22
5. ARANEÍSMO	23
5.1. <i>Phoneutria</i> sp.	23
5.2. <i>Loxosceles</i> sp.	24
5.3. <i>Latrodectus</i> sp.	24
6. OUTROS GRUPOS VENENOSOS DE IMPORTÂNCIA PARA A SAÚDE PÚBLICA BRASILEIRA	25
7. SOROTERAPIA	25
7.1. HISTÓRICO.....	25
7.2. ANTICORPOS, IMUNOGLOBULINAS E ANTÍGENOS	28
7.3. SORO	29
8. FARMACOLOGIA DO SORO	32
9. TRATAMENTOS ALTERNATIVOS	33
9.1. ANTICORPOS MONOCLONAIS	33

9.2. ANTICORPOS RECOMBINANTES.....	34
9.2.1 scFv, <i>Diabody</i> e VhH ou Nbs	34
10. LIMITAÇÕES AO USO DE ANTICORPOS RECOMBINANTES MONOCLONAIS E FRAGMENTOS DE ANTICORPOS	38
11. PORQUE AINDA A SOROTERAPIA CONVENCIONAL É O TRATAMENTO MAIS UTILIZADO	39
12. CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
REFERÊNCIAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

A incidência de acidentes com animais venenosos é comum nos trópicos, principalmente na América Latina, Ásia e África (SALOMÃO, *et al.* 2018). Casos envolvendo serpentes venenosas possuem muitos registros desde 1876 (KARALLIEDDE, *et al.* 1995). Já acidentes com escorpiões podem registrar óbitos de vítimas crianças e idosas (OZKAN, *et al.* 2008). No araneísmo, aranhas do gênero *Loxosceles* ocasionam o loxoscelismo, doença de grande importância médica (DUARTE, *et al.* 2015). Além destas, o gênero *Phoneutria* apresenta um importante veneno e é responsável pelo maior número de acidentes com aranhas no Estado de São Paulo (CUPO, *et al.* 2003).

Como tratamento específico, as vítimas de acidentes com animais venenosos são submetidas à soroterapia, descrita há mais de um século, pelo médico Emil Adolf Von Behring, que juntamente com o microbiologista Shibasaburo Kitasato comprovou a eficácia da imunidade passiva contra toxinas do tétano e, em seguida da difteria, em 1890 (BAPTISTÃO, *et al.* 2018 e PUCCA, *et al.* 2019).

A partir deste evento o soro antiveneno passou a ser melhorado e utilizado constantemente como tratamento para pessoas já expostas a determinadas toxinas levando em consideração o tipo de toxina envolvida e o grau de gravidade.

No entanto, a natureza não humana dos componentes presentes nos soros antivenenos pode induzir reações imunogênicas nas vítimas tratadas (ALIRAHIMI, *et al.* 2018), além disso este tratamento não alcança toda a população necessitada (CHIPPAUX & HABIB, *et al.* 2015 e SALOMÃO, *et al.* 2018). Desta forma, com a elevada quantidade de casos registrados anualmente e com a atual existência de métodos alternativos como os anticorpos recombinantes e sua alta especificidade, procuramos compreender a massiva e quase que exclusiva utilização dos soros como tratamento antiveneno.

1.1. OBJETIVO

O tratamento realizado em vítimas de acidentes com animais venenosos ainda hoje é a soroterapia. A produção do soro antiveneno obviamente foi melhorada ao longo de tantas pesquisas, contudo o princípio terapêutico é o mesmo. Assim, esta revisão tem por objetivo analisar a carência de diversidade de métodos para o tratamento antiveneno. Ainda, determinar quais os fatores que contribuem para esta realidade. Serão revistos os principais tipos de acidentes com serpentes, escorpiões e aranhas além das espécies predominantes no Brasil. E finalmente, apresentaremos o que se propõe de mais moderno quanto ao emprego de moléculas recombinantes para a neutralização dos efeitos tóxicos provocados por estes venenos.

2. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Os acidentes envolvendo mordidas de serpentes predominam em países tropicais situados na Ásia e África. Índia, Paquistão, Birmânia, Nigéria, Estados Unidos e Brasil (PINHO, *et al.* 2001). Além da Austrália (HEID, *et al.* 1983), Costa Rica e África do Sul (FIGURA 1) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1981).

Acidentes com escorpiões são observados em países como Brasil, Estados Unidos, México, Irã, Iraque, Egito, Paquistão, Arábia Saudita, Tunísia, Omã, Marrocos, África do Sul, Iêmen e Emirados Árabes Unidos (FIGURA 2) (DEHGHANI, *et al.* 2018 e PARDAL, *et al.* 2003).

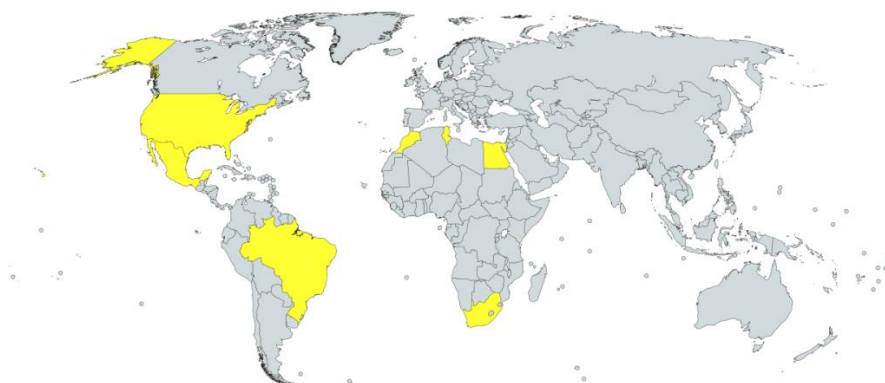
Os registros de araneísmo se encontram principalmente em países tropicais e subtropicais da Europa, África, Austrália, Ásia e Américas (FIGURA 3) (RODRÍGUEZ, *et al.* 2008). Aranhas do gênero *Loxosceles* são localizadas na América do Norte, América Latina, Europa, Oriente Médio e outras regiões da Ásia, África e Austrália (DUARTE, *et al.* 2015).

FIGURA 1. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE OFIDISMO NOS PAÍSES DE MAIOR INCIDENCIA



FONTE: Criado com mapchart.net© com base nos dados epidemiológicos da literatura.

FIGURA 2. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE ESCORPIONISMO NOS PAÍSES DE MAIOR INCIDENCIA



FONTE: Criado com mapchart.net© com base nos dados epidemiológicos da literatura.

FIGURA 3. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE ARANEÍSMO NOS PAÍSES DE MAIOR INCIDENCIA



FONTE: Criado com mapchart.net© com base nos dados epidemiológicos da literatura.

3. OFIDISMO

O ofidismo, termo utilizado para definir acidentes envolvendo mordidas de serpentes peçonhentas, pode ser classificado em quatro grupos principais, sendo eles botrópico, crotálico, laquético e elapídico.

As regiões brasileiras com mais registros de ofidismo em ordem decrescente de acordo com dados quantitativos são as regiões Centro-Oeste, Norte, Sul, Sudeste e Nordeste (PINHO, *et al.* 2001). A identificação das cobras venenosas lista presença de fosseta loreal (exceto em espécies do gênero *Micrurus*), presas anteriores com sulco, pupilas em forma de fenda e cauda fina (PINHO, *et al.* 2001).

3.1. OFIDISMO BOTRÓPICO

O gênero *Bothrops* (FIGURA 4) abrange aproximadamente 30 espécies no Brasil com maior predominância de espécies como *Bothrops atrox*, *Bothrops erythromelas*, *Bothrops jararaca* e *Bothrops jararacussu*. As características que identificam o grupo listam cauda fina e corpo com coloração variada (PINHO, *et al.* 2001). A peçonha destas serpentes age de forma proteolítica ou necrotizante, coagulante e hemorrágica (RIBEIRO; JORGE, *et al.* 1997). Os sintomas comumente observados em casos de ofidismo botrópico incluem dor imediata, edema, equimose, bolhas, infecção e necrose (FUNED, *et al.* 2016).

3.2. OFIDISMO CROTÁLICO

O gênero *Crotalus* agrupa serpentes popularmente conhecidas como cascavéis (FIGURA 5). No Brasil, há registro apenas da espécie *Crotalus durissus*. Podem ser encontradas em ambientes de serrado, campos, regiões arenosas e de clima seco (PARDAL, *et al.* 2007). Estas serpentes são identificadas por meio de presença de fosseta loreal e guizo na cauda. Devido a ação do veneno crotálico podem ser observados nas vítimas eventos como paralisias motoras e respiratórias, além de coagulação sanguínea. A mordida costuma ser praticamente indolor e os sintomas incluem parestesia, edema,

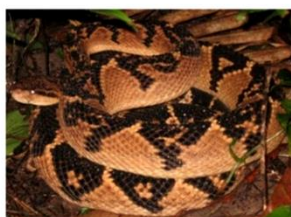
eritema, mau-estar, sudorese, náuseas, sonolência e prostração (PINHO, *et al.* 2001).

3.3. OFIDISMO LAQUÉTICO

O gênero *Lachesis* compreende a espécie *Lachesis muta* caracterizada por ser a maior serpente peçonhenta encontrada nas Américas (FIGURA 6) (PINHO, *et al.* 2001). A peçonha laquética pode ativar o plasminogênio resultando em degradação de fibrinogênio e fibrina, além de agir de forma coagulante, hemorrágica, inflamatória, proteolítica, miotóxica pela ação de fosfolipases e agir neurotxicamente (SOUZA, *et al.* 2009). Os sintomas do ofidismo laquético incluem dor intensa na região da mordida, edema, equimose e hemorragia (SOUZA, *et al.* 2009). Ainda podem ser observadas hipotensão arterial e braquicardia (PINHO, *et al.* 2001).

3.4. OFIDISMO ELAPÍDICO

O gênero *Micrurus* (FIGURA 7), responsável por desenvolver o ofidismo elapídico, apresenta 18 espécies no Brasil, sendo comumente encontradas na região Sul e Sudeste com o predomínio das espécies *Micrurus corallinus* e *Micrurus frontalis*, a qual também pode ser encontrada na região centro-oeste do país assim como *Micrurus lemniscatus*, presente ainda na porção norte brasileira (PINHO, *et al.* 2001). A peçonha elapídica apresenta neurotoxinas que agem de forma pós-sináptica e pré-sináptica. Dor local, parestesia, vômitos, fraqueza muscular e paralisia flácida da musculatura respiratória são alguns dos sintomas que podem ser observados neste tipo de ofidismo (FUNASA, *et al.* 2001).

FIGURA 4. JARARACA (*Bothrops atrox*)FIGURA 5. CASCAVEL (*Caudisona durissa*)FIGURA 6. SURUCUCU-PICO-DE-JACA
(*Lachesis muta*)FIGURA 7. CORAL-VERDADEIRA
(*Micrurus altirostris*)

FONTE: Figuras 4-7. Bernarde (2011, p.60-61) foto por Daniel Loebmann.

4. ESCORPIONISMO

No Brasil, o escorpionismo possui grande importância para a saúde pública já que o clima quente e as condições de pluviosidade do país favorecem a ocorrência destes aracnídeos e, conseqüentemente, a incidência de acidentes envolvendo escorpiões peçonhentos principalmente em áreas urbanas onde há a maior concentração populacional (SOARES, 2002).

As regiões brasileiras com mais registros de escorpionismo são as regiões Sudeste e Nordeste (SILVA, *et al.* 2000). Dentro das espécies de escorpiões, quatro são as principais, sendo *Tityus serrulatus* (escorpião-amarelo), *Tityus stigmurus* (escorpião-amarelo-do-nordeste), *Tityus bahiensis* (escorpião preto) e *Tityus obscurus* (escorpião-preto-da-amazônia) (OZKAN, *et al.* 2008).

4.1. *Tityus serrulatus*

Considerada a espécie de escorpião mais perigosa encontrada no Brasil, *Tityus serrulatus* (FIGURA 8) apresenta tronco escuro, patas, cauda e pedipalpos amarelos e pode ser encontrado na Bahia, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro e São Paulo (FUNASA, *et al.* 2001). Dor local, sudorese profusa, edema, eritema e náuseas são alguns dos sintomas observados em casos de picada da espécie (FUNASA, *et al.* 2001).

4.2. *Tityus stigmurus*

São encontrados na região nordeste do Brasil e identificados pelo seu tronco amarelo-escuro e pela presença de um triângulo negro no cefalotórax (FIGURA 9). Dor local, dormência, eritema, parestesia, edema, cefaléia e vômito são alguns dos sintomas típicos da picada de *Tityus stigmurus* (SILVA, *et al.* 2000).

4.3. *Tityus bahiensis*

Podem ser encontrados nos estados de Goiás, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina (FUNASA, *et al.* 2001). Apresentam tronco escuro e cauda marrom-avermelhada (FIGURA 10) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, *et al.* 2009). Os sinais de envenenamento são neurotóxicos, uma vez que a peçonha apresenta neurotoxinas.

4.4. *Tityus obscurus*

Ocorrem desde a Guiana Francesa até a região amazônica brasileira (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ, LEMAP). Identificados pela sua coloração negra em todo o corpo (FIGURA 11), os escorpiões *Tityus obscurus* também são conhecidos como *Tityus paraensis* e *Tityus cambridgei* (PARDAL,

et al. 2014). A picada desta espécie pode desencadear sintomas como dor no local da picada, vômitos, sudorese, taquicardia e edema pulmonar, em quadros graves (PARDAL, *et al.* 2014).

FIGURA 8. *Tityus serrulatus*



FIGURA 9. *Tityus stigmurus*



FIGURA 10. *Tityus bahiensis*



FIGURA 11. *Tityus obscurus*



FONTE: Figuras 8-10. Ministério da saúde (2009, p. 10-12) foto por Denise Maria Cândido. Figura 11. Brazil (2010, p. 68) foto por M. Cozijn.

5. ARANEÍSMO

As regiões Sul e Sudeste do Brasil concentram o maior número de casos de araneísmo do país (CHAGAS, *et al.* 2010). Os gêneros responsáveis pela maioria dos acidentes em território brasileiro são *Phoneutria*, *Loxosceles* e *Latrodectus* (NÓBREGA, *et al.* 2018). Estes aracnídeos predominam no interior de domicílios como forma de esconderijo, já que seu habitat sofreu modificações pela urbanização em massa (NÓBREGA, *et al.* 2018).

5.1. *Phoneutria* sp.

Conhecidas como aranhas armadeiras (FIGURA 12), são encontradas nas regiões Norte, Centro Oeste, Sudeste e Sul do Brasil. Sendo que as espécies mais comuns são *P. fera*, *P. reidyi*, *P. nigriventere* *P. keyserfingi* (FUNASA, *et al.* 2001). A vítima de *Phoneutria* pode apresentar sintomas

como dor local, edema, eritema e parestesia além de hipotensão e braquicardia em casos considerados graves (CHAGAS, *et al.* 2010).

5.2. *Loxosceles* sp.

Conhecidas como aranhas marrons (FIGURA 13), são encontradas principalmente nas regiões Sudeste e Sul do Brasil, sendo as espécies predominantes *Loxosceles intermedia*, *L. laeta* e *L. gaucho* (FUNASA, *et al.* 2001). Os sintomas são difíceis de ser observados pela própria vítima uma vez que a picada é quase indolor. Assim, a procura de tratamento geralmente acontece após a evolução da dor local ocorrendo até 36 horas pós picada (NÓBREGA, *et al.* 2018) em que os sintomas normalmente observados incluem dor, edema, hemorragia e necrose local (CUPO, *et al.* 2003). Ainda, o loxoscelismo é dividido em duas formas, sendo cutânea e cutâneo-visceral.

5.3. *Latrodectus* sp.

Conhecidas como aranhas viúvas-negra (FIGURA 14), estes aracnídeos podem ser encontrados principalmente na região Nordeste do Brasil. As espécies ocorrentes são *Latrodectus curacaviensis* e *L. gemetricus* (FUNASA, *et al.* 2001). A vítima destas aranhas pode apresentar sintomas como edema, rumbor, dor e rigidez do músculo do abdomen, febre, sudorese e náuseas (SOUZA, *et al.* 1998).

FIGURA 12. *Phoneutria keyserlingi*FIGURA 13. *Loxosceles* (Sicariidae)FIGURA 14. *Latrodectus curacaviensis*

FONTE: Figuras 12 e 13. Indicatti (2013, p. 25-27) foto por Rafael Prezzi Indicatti. Figura 14. Azevedo (2017, p. 153) foto por Pedro H. Martins.

6. OUTROS GRUPOS VENENOSOS DE IMPORTÂNCIA PARA A SAÚDE PÚBLICA BRASILEIRA

Além de serpentes, escorpiões e aranhas, lepidópteros, himenópteros, coleópteros, quilópodes, peixes e cnidários são grupos de animais que podem apresentar peçonha e possuem a capacidade de injetá-las em um organismo por meio de estruturas corporais como espinhos, ferrões ou cerdas (MINISTÉRIO DA SAÚDE e LAUSTSEN *et al.* 2018).

7. SOROTERAPIA

7.1. HISTÓRICO

Em 1888, Émile Roux e Alexandre Yersin, por meio de um cultivo de bacilos diftéricos, observaram que o caldo filtrado das culturas possuía capacidade de paralisar e matar cobaias, porém o mesmo caldo quando em

meio de cultura não se proliferava. Os pesquisadores então concluíram que havia produção de toxina pelo bacilo diftérico (SANT'ANNA, *et al.* 2005).

Neste contexto, o médico alemão Emil Adolf Von Behring, junto ao auxílio de Paul Ehrlich, com o objetivo de encontrar a cura para a difteria observou a neutralização das toxinas diftéricas por meio de soro de animais que tiveram o bacilo inoculado (SANT'ANNA, *et al.* 2005).

Em 1890, o soro antiveneno foi descrito na Alemanha por Emil Adolf Von Behring e pelo microbiologista Shibasaburo Kitasato quando relataram em uma publicação a neutralização de toxinas tetânicas através da injeção de soro de coelhos, imunizados com uma cultura inativada de *Clostridium tetani*, em camundongos que, logo em seguida foram inoculados com a forma virulenta de *Clostridium tetani*. Este trabalho apresentou a condução da imunidade passiva contra toxinas tetânicas pela imunidade humoral. Em seguida, Emil Adolf Von Behring apresentou outro artigo de sua autoria seguindo a mesma metodologia do estudo anterior para neutralizar toxinas diftéricas, possibilitando a produção de soro contra difteria (BAPTISTÃO, *et al.* 2018 e PUCCA, *et al.* 2019).

Em 1891, uma criança com difteria em situação grave recebeu o soro como tratamento para a doença e teve os sintomas regredidos. A partir disso, Émile Roux e Louis Martin assim como Emil Adolf Von Behring e Paul Ehrlich iniciaram a produção de soro em equinos na França e na Alemanha, respectivamente, originando desta forma a soroterapia. Em 1894, o francês Albert Calmette obteve o primeiro soro antiofídico, porém sem especificidade antigênica (BAPTISTÃO, *et al.* 2018).

Em 1895, o médico brasileiro Vital Brazil ao mudar-se para a cidade de Botucatu/SP iniciou estudos com serpentes peçonhentas e suas toxinas (SANT'ANNA, *et al.* 2005). Em 1901, foi fundado o Instituto Butantan onde Vital Brazil começou trabalhos aprofundados sobre animais peçonhentos, seus venenos e acidentes (FAN; MONTEIRO, 2018). Também foi o médico brasileiro que mostrou em primeira mão a especificidade antigênica dos venenos das serpentes brasileiras (SANT'ANNA, *et al.* 2005).

Em 1908, foi instituída a Fundação Ezequiel Dias e, em 1927, inaugurou-se o Instituto Vital Brazil, laboratórios estes que contribuem até os dias atuais com as maiores produções de soros antivenenos brasileiros (FAN; MONTEIRO, 2018).

O Programa Nacional de Imunização foi introduzido em 1973, desde então doenças transmissíveis passaram a ter um maior controle através de vacinações assim como os envenenamentos começaram a ser melhor controlados pela produção em massa de soros antivenenos nos laboratórios nacionais (FAN; MONTEIRO, 2018).

A vítima de acidente com animal peçonhento deve ser tratada o mais precoce possível com o soro antiveneno correspondente ao seu quadro clínico administrado intravenosamente (TABELA 1). Atualmente existem soros específicos para ofidismo, escorpionismo e araneísmo. No Brasil, estes são produzidos pelo Instituto Butantan, Instituto Vital Brazil, Fundação Ezequiel Dias e Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos (SOUZA, *et al.* 2018).

TABELA 1 - RELAÇÃO DO TRATAMENTO ANTIVENENO COM SORO POR ACIDENTE

Gênero/espécie envolvida	Soro antiveneno utilizado
<i>Bothrops</i> sp.	Antibotrópico (SAB)*
<i>Crotalus</i> sp.	Anticrotálico ou antibotrópico-crotálica (SABC)* ou Anticrotálico (SAC)***
<i>Lachesis</i> sp.	Antilaquétrico (SAL) ou Antibotrópico-laquétrico (SABL)*
<i>Micrurus</i> sp.	Antielapídico (SAE)*
<i>Tityus serrulatus</i> , <i>Tityus stigmurus</i> , <i>Tityus bahiensis</i> e <i>Tityus obscurus</i>	Antiescorpiônico (SAEEs) ou Antiaracnídico (SAAr)**
<i>Phoneutria</i> sp. e <i>Loxosceles</i> sp.	Antiaracnídico (SAAr)* ou Antiloxoscélico (trivalente) (SALox)***
<i>Latrodectus</i> sp.	Antilatrodéctico (SALatr)*

*FUNASA, *et al.* 2001.

**TORRES, *et al.* 2002.

***SOUZA, *et al.* 2018.

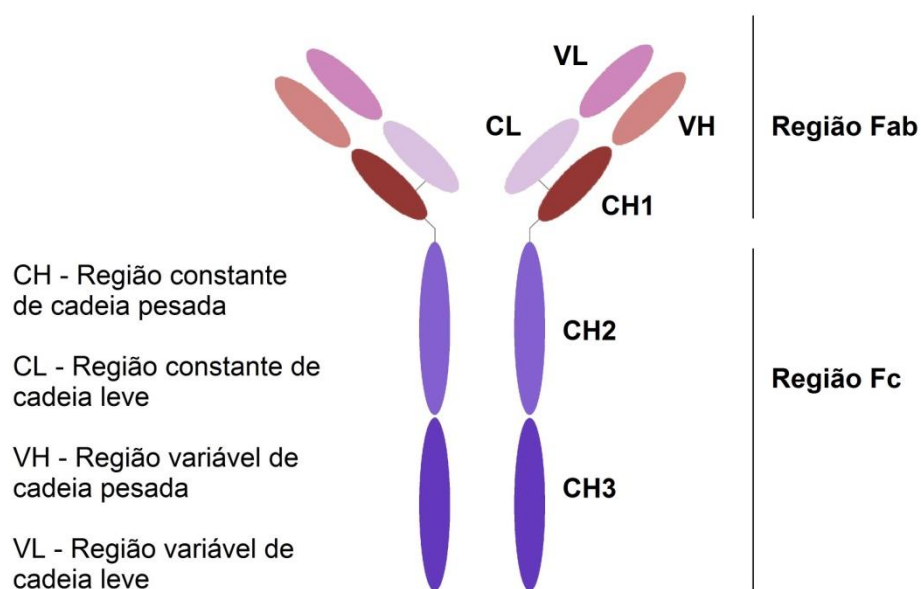
7.2. ANTICORPOS, IMUNOGLOBULINAS E ANTÍGENOS

Na resposta imune humoral, o antígeno é aprisionado por células apresentadoras de antígenos as quais fazem apresentação destes a linfócitos com receptores de superfície específicos que realizam o reconhecimento dos determinantes antigênicos, estruturas moleculares do antígeno. Em seguida, o reconhecimento do antígeno proporciona a multiplicação celular e produção de anticorpos pelos linfócitos B.

A estrutura molecular dos anticorpos foi descrita pela primeira vez em 1959 por Gerald Edelman e Rodney Porter (PUCCA, *et al.* 2019). Anticorpos apresentam forma em Y e em sua estrutura são encontradas duas cadeias pesadas (CH) e duas cadeias leves (CL) ligadas por cadeias dissulfeto (FIGURA 15) (ABBAS, *et al.* 2019). Em cada uma das quatro cadeias existe uma região variável (V), sendo VL (região variável de cadeia leve) e VH (região variável de cadeia pesada) que ajudam no reconhecimento do antígeno. Ainda, há um domínio constante na estrutura das cadeias leves e três a quatro domínios constantes nas cadeias pesadas (MARQUES, *et al.* 2005). Nas cadeias pesadas a região variável (V) é composta por um domínio Ig enquanto a região constante (C) apresenta entre três e quatro domínios Ig (ABBAS, *et al.* 2019).

A região dos anticorpos responsável por realizar a ligação ao antígeno é denominada Fab, sendo que a região Fc (extremidade C-terminal) está associada com as funções efectoras (ABBAS, *et al.* 2019).

FIGURA 15. ESTRUTURA MOLECULAR DE UMA IMUNOGLOBULINA



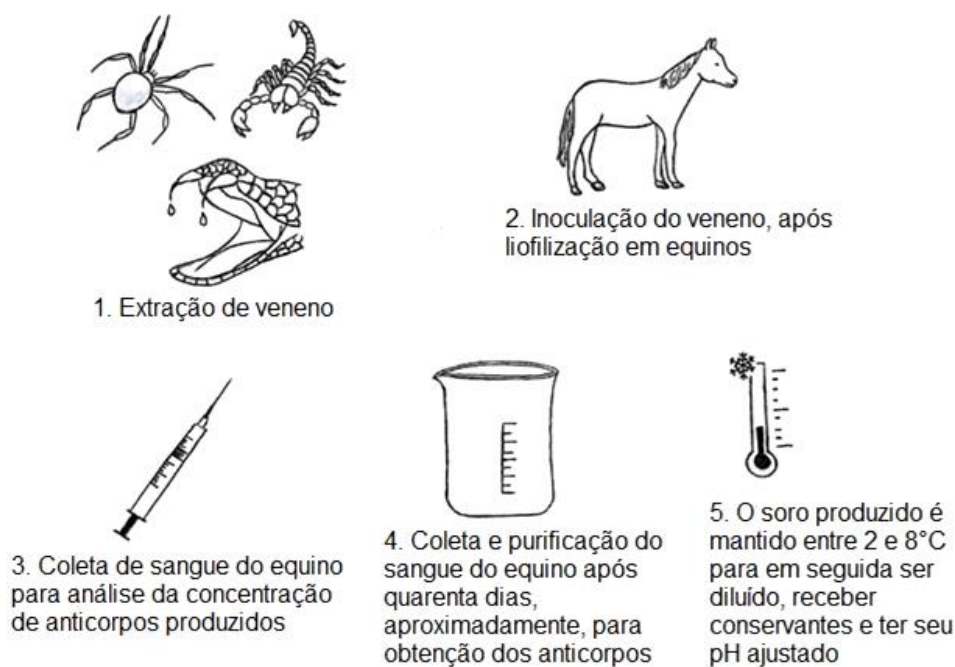
FONTE: A autora (2019).

7.3. SORO

O soro é uma solução constituída de imunoglobulinas purificadas ou frações F(ab')₂ (SALOMÃO, *et al.* 2018) obtidas através da digestão de IgG's por pepsina (KUNIYOSHI, *et al.* 2017). O princípio da soroterapia visa a neutralização de toxinas presentes no plasma sanguíneo e nos tecidos de um indivíduo. As imunoglobulinas pertencentes ao soro são obtidas a partir do plasma de determinados animais como camelos, lhamas e equinos, os quais sofrem uma hiperimunização com toxinas específicas (FIGURA 16).

Para a produção de soros hiperimunes um antígeno específico deve entrar em contato com receptores de células B virgens ou *naïve*, após alguns dias estas células sofrerão diferenciação celular se transformando em plasmócitos que produzirão anticorpos de alta afinidade após diversas etapas de maturação e seleção (KUNIYOSHI, *et al.* 2017).

FIGURA 16. BREVE REPRESENTAÇÃO DA PRODUÇÃO DOS SOROS ANTIVENENO



FONTE: A autora (2019).

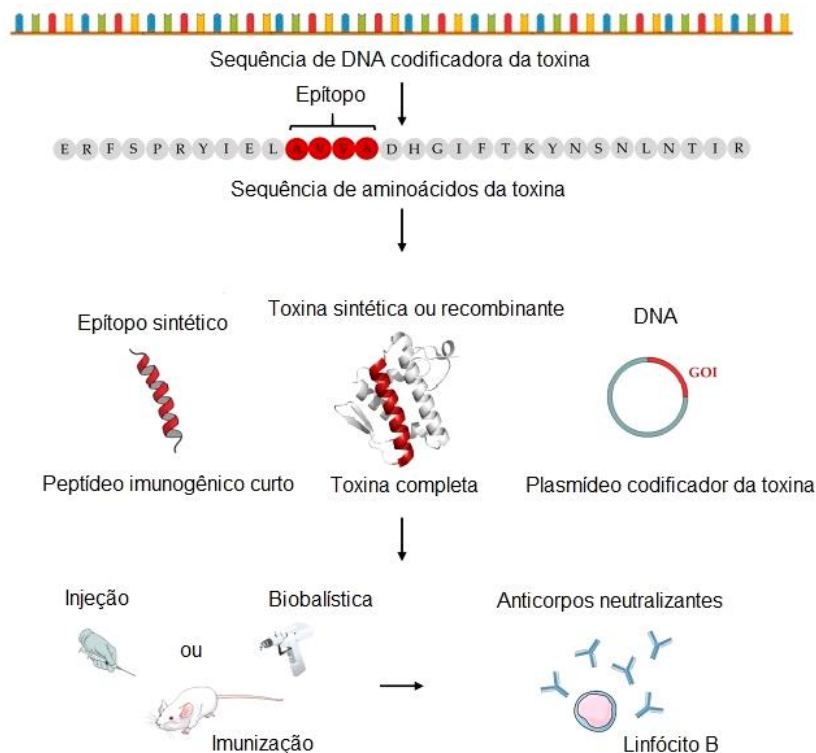
A obtenção do antígeno ou do veneno para produção de determinado soro específico torna necessária a criação e manipulação das espécies e, desta forma, o veneno pode ser coletado para posterior obtenção de plasma hiperimune (SILVA, *et al.* 2008). Para extração do veneno o animal em questão é imobilizado e sofre estímulos para liberar a peçonha.

Como alternativa para obtenção de antígenos alguns grupos propõem a produção recombinante de toxinas em bactérias ou linhagens celulares eucarióticas em condições específicas e otimizadas (ALIRAHIMI, *et al.* 2018). A exemplo disto temos a produção *in vitro* de toxinas recombinantes como os PLDs ou fosfolipases D pertencente à composição molecular do veneno de aranhas do gênero *Loxosceles* (CALABRIA, *et al.* 2019). Um outro caminho mais recentemente explorado considera a produção de antivenenos pela imunização com toxinas sintéticas (FIGURA 17).

Méndez (*et al.* 2018) cita algumas toxinas recombinantes empregadas atualmente como imunógenos. Entre elas encontramos as toxinas ofídicas α e β - neurotoxinas da espécie *Bungarus candidus* (SUNTRARACHUN, *et al.* 2010), neurotoxinas ricas em cisteína (Mlat1) de *Micrurus laticorallis* (CLEMENT, *et al.* 2016) e a α -neurotoxina D.H tipo I da espécie *Micrurus*

diastema (GUERRERO-GARZÓN, *et al.* 2018). No entanto, segundo Méndez (*et al.* 2018) a utilização de veneno ainda se faz necessária mesmo com o desenvolvimento de novos métodos terapêuticos, uma vez que é preciso manter um controle da qualidade e eficiência de tais alternativas.

FIGURA 17. PRODUÇÃO DE UMA TOXINA SINTÉTICA OU RECOMBINANTE



Com base na sequência de aminoácidos da(s) toxina(s) de interesse, peptídeo(s) imunogênico(s) ou toxina(s) inteiras, produzidos sintética ou recombinantemente, podem ser injetados em animais. A imunização com peptídeo(s) ou toxina(s) levará a uma resposta imune mediada por linfócitos B. A partir da(s) sequência(s) de DNA da(s) toxina(s), um plasmídeo que codifica o(s) gene(s) de interesse (GOI) pode ser transfectado para células animais por meio da biobalística. Após a transfecção, as células animais produzirão a toxina, que deve ser capaz de induzir uma resposta imune específica, com subsequente produção de anticorpos.

FONTE: Adaptado de E. B. Méndez (2018).

8. FARMACOLOGIA DO SORO

Objetivando compreender a ação neutralizante dos soros antivenenos produzidos pela indústria farmacêutica atual, devemos primeiramente compreender a composição molecular dos venenos inoculados nas vítimas tratadas. A seguir será explanada a composição geral de alguns venenos.

A peçonha ofídica apresenta em sua composição molecular “toxinas de três dedos” (3FTx), fosfolipases (PLA₂), serina-proteinases (SVSPs), peptídeos vasoativos, metaloproteinase (SVMPs), além de desintegrinas (ALIRAHIMI, *et al.* 2018 e MÉNDEZ, *et al.* 2018).

O veneno escorpiônico é composto de nucleotídeos, mucoproteínas, lipídios, peptídeos sem ponte dissulfeto (NDBPs) e peptídeos com ponte dissulfeto (DBPS) com alta variabilidade molecular os quais atuam sobre canais iônicos causando neurotoxicidade (ALIRAHIMI, *et al.* 2018 e MÉNDEZ, *et al.* 2018).

O veneno de *Phoneutria* sp. apresenta toxinas peptídicas ricas em cisteína, com pontes dissulfeto estabelecidas intramolecularmente que se organizam em uma estrutura referida como “nó de cistina inibidor” (*Inhibitor Cysteine Knot*- ICK) (MATSUBARA, *et al.* 2011) além das toxinas CAPs (DINIZ, *et al.* 2018).

Aranhas do gênero *Loxosceles* possuem em seu veneno compostos moleculares como fosfolipases-D (PLDs), principais toxinas responsáveis pela inflamação, dermonecrose, coagulação, hemólise e nefrotoxicidade, além de metaloproteases, serina proteases, hialuronidases, alérgenos, inibidores de serina protease e peptídeos ICK (*Inhibitor Cysteine Knot* - “nó de cistina inibidor”) (CALABRIA, *et al.* 2019).

A principal toxina encontrada no veneno de *Latrodectus* sp. é a α -latrotoxina ou α -LTX. Esta neurotoxina é responsável pelo desenvolvimento do latrodectismo (MÉNDEZ, *et al.* 2018).

É importante que o soro antiveneno seja administrado precocemente para garantir uma melhor neutralização do veneno. Em sua composição podem existir porções Fab, fragmentos obtidos através da proteólise da imunoglobulina G (IgG) por papaína ou F(ab')₂, fragmentos obtidos através da proteólise de IgG por pepsina (LAUSTSEN, *et al.* 2018).

9. TRATAMENTOS ALTERNATIVOS

Apesar da soroterapia ser um método de tratamento eficaz específico, a natureza não humana dos antígenos pode induzir reações imunogênicas nas vítimas tratadas (ALIRAHIMI, *et al.* 2018), além disso a sua utilização não alcança todas as vítimas já que a produção dos soros antivenenos demanda alto custo e, desta forma são poucos os hospitais que oferecem o tratamento correto para as vítimas (CHIPPAUX & HABIB, *et al.* 2015). Ainda, muitos países contam com a carência da produção científica, como na África em que a produção do soro polivalente para serpenres (FAV-Afrique) foi encerrada (SALOMÃO, *et al.* 2018). Em seguida serão apresentadas algumas alternativas aos métodos atualmente empregados.

9.1. ANTICORPOS MONOCLONAIS

Em 1975 Kohler e Milstein produziram por meio de hibridoma, ou seja, células resultantes de uma fusão de células B produzidas por camundongos imunizados com células de mieloma, a primeira geração de anticorpos monoclonais (mAbs) (ALIRAHIMI, *et al.* 2018 e NISSIM, *et al.* 2008). Os anticorpos monoclonais são triados frente ao antígeno específico e selecionados conforme o interesse para a sua proliferação (ABBAS, *et al.* 2019).

O emprego dos anticorpos monoclonais como tratamento antiveneno foi testado pela primeira vez em 1988 por Bahraoui contra uma toxina escorpiônica denominada toxina II (PUCCA, *et al.* 2019). Anticorpos desta natureza também obtiveram sucesso ao neutralizar venenos de serpentes, escorpiões e aranhas em testes *in vitro* (LAUSTSEN, *et al.* 2018).

Os primeiros anticorpos monoclonais desenvolvidos desencadearam respostas imunes aos pacientes tratados, devido a sua origem murina. Respostas estas denominadas HAMA (*human anti-mouse antibody* - “anticorpo humano anti-rato”) (MARQUES, *et al.* 2005). Como solução foi realizada a substituição da porção de *framework* e Fc do anticorpo monoclonal do

camundongo por porções humanas originando desta forma, anticorpos monoclonais humanizados (HWANG; FOOTE, *et al.* 2005).

Neste contexto, diferentes formas de mAb's estão sendo estudadas a fim da neutralização de toxinas oriundas de animais venenosos, como as formas IgG, humanizada, e Fab, scFv e *diabody*, recombinantes (LAUSTSEN, *et al.* 2018).

9.2. ANTICORPOS RECOMBINANTES

Anticorpos recombinantes possuem vantagens importantes como a especificidade anígeno-anticorpo, glicosilação e regulação adequada, além de fácil purificação e disponibilidade de ferramentas genéticas para sua linha produção (LAUSTSEN, *et al.* 2018). Estes anticorpos podem ser produzidos por meio de bactérias ou de leveduras uma vez que possuem imunogenicidade reduzida quando comparados a um anticorpo completo expresso em célula (ANDRADE, *et al.* 2018).

A capacidade de ampla distribuição e penetração tecidual de um anticorpo recombinante garantem a eficiência das formas menores (Fab obtido por meio de engenharia molecular, scFv, *diabody* e VhH) (LAUSTSEN, *et al.* 2018).

Através da hipermutação somática mimética é possível aumentar a afinidade e especificidade dos anticorpos recombinantes ao antígeno (AHMAD, *et al.* 2012). Estes anticorpos ainda podem neutralizar toxinas através de inibição direta competitiva, alostérica ou estérica, além de impedir a dissociação de complexos de toxinas inibindo a sua forma ativa (FIGURA 19 e 20) (LAUSTSEN, *et al.* 2018).

9.2.1 scFv, *Diabody*, VhH ou Nbs e IgG recombinante

Os fragmentos variáveis de cadeia única ou scFv são os menores fragmentos de um anticorpo e apresentam meia vida curta (SILVA *et al.* 2016 e ALIRAHIMI *et al.* 2018) estando entre os principais anticorpos recombinantes estudados e aplicados para a neutralização de toxinas animais, estes formatos

neutralizam *in vivo* toxinas ofídicas, escorpiônicas e aracnídicas (LAUSTSEN, *et al.* 2018). Apresentam a vantagem de serem facilmente diluídos e distribuídos no plasma devido ao seu pequeno tamanho (~25kDa) (FIGURA 18).

Diabodies são dímeros não covalentes de fragmentos de anticorpos de cadeia única (scFvs) que apresentam pequena massa molecular (55 kDa) (FIGURA 18) (LAUSTSEN, *et al.* 2018) e trazem vantagens para a sua empregabilidade em tratamentos como evitar reações imunogênicas e possuir uma eficiente distribuição tecidual (SILVA, *et al.* 2016).

Nbs ou *nanobody*, também referidos como VhH, é a denominação atribuída à região de ligação ao antígeno de HCAs, anticorpos de cadeia pesada produzidos em camelídeos imunizados (MUYLDERMANS, *et al.* 2009). Descritos por Hamers-Casterman em 1993, estes fragmentos de anticorpos de cadeia única trazem vantagens para sua empregabilidade tais como alta termostabilidade, produção em meios microbiológicos, reconhecimento de epítopos os quais anticorpos convencionais não reconhecem (PUCCA, *et al.* 2019) e, ainda evitam respostas imunogênicas humanas pois compartilham identidade de sequência com domínios VH humanos (ALIRAHIMI, *et al.* 2018).

As moléculas inteiras de imunoglobulinas G (IgG) possuem a maior massa molecular entre as formas de anticorpos empregadas atualmente (FIGURA 18), com cerca de 150 kDa. No futuro, o emprego das IgGs recombinantes inteiras humanas em soros será vantajoso pelo fato destas capturarem mais de uma toxina e fazer complexo em macrófagos, principalmente quando em baixa afinidade. Este complexo é internalizado e, desta forma as toxinas são degradadas no citoplasma do macrófago. Após este processo, as mesmas IgGs podem retornar, por meio da fagocitose mononuclear, à membrana plasmática onde serão liberados novamente na circulação sanguínea retornando a capturar toxinas. Esta reciclagem garante às IgGs inteiras a vantagem de uma meia vida longa (LAUSTSEN, *et al.* 2018). Apesar do alto potencial neutralizante dos soros antivenenos é sabido que mais de 70% dos anticorpos totais injetados não são específicos para os componentes do veneno e somente 5% dos específicos é que realmente apresentam potencial neutralizante (LAUSTSEN, *et al.* 2018).

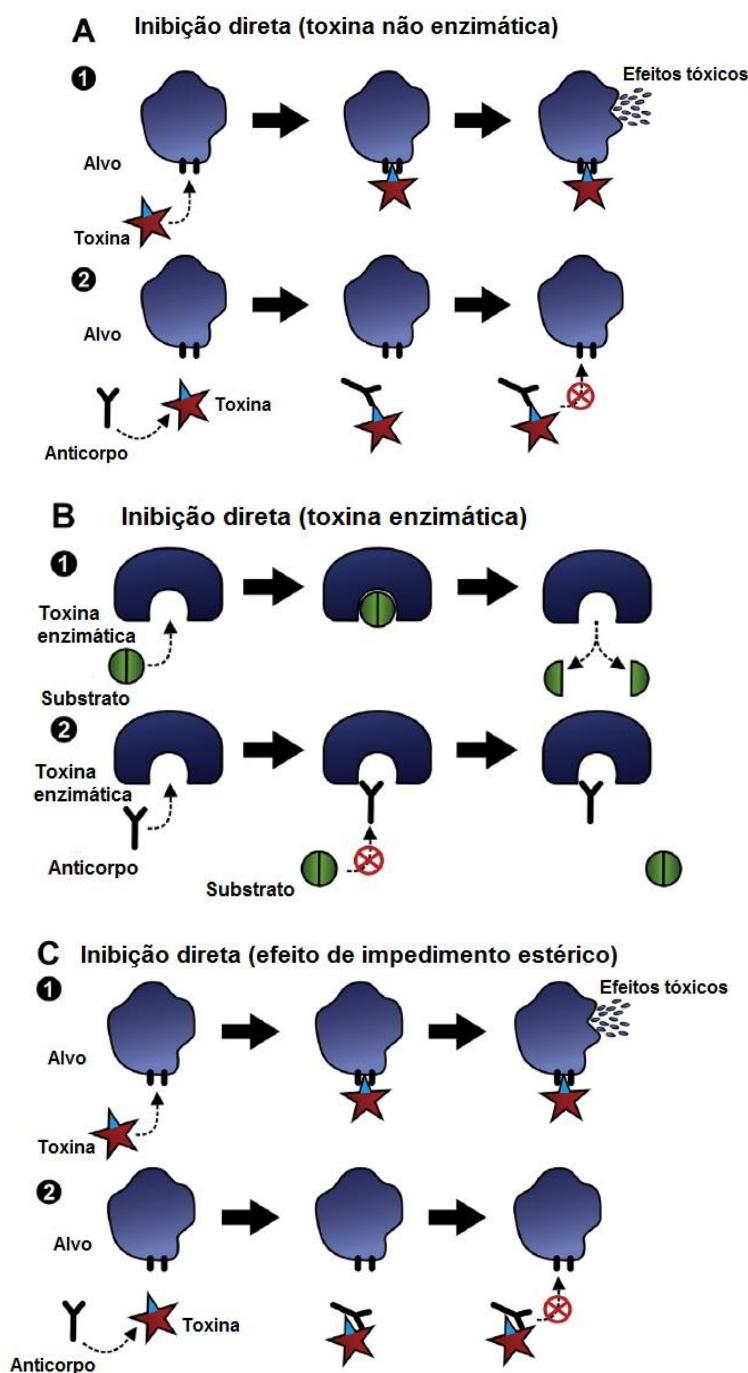
FIGURA 18. DIFERENTES FORMATOS DE ANTICORPOS UTILIZADOS NA CLÍNICA E EXPERIMENTALMENTE



Representação esquemática dos diferentes formatos de anticorpos utilizados na clínica e experimentalmente. IgG: imunoglobulina tipo G inteira. F(ab')₂: região específica de interação ao antígeno de IgG digerida por pepsina. Fab: região específica de interação ao antígeno de IgG digerida por papaína. Diabody: dímeros não covalentes de fragmentos de anticorpos de cadeia única (scFVs). scFv: fragmentos variáveis de cadeia única. V_HH: fragmentos de anticorpos de domínio único.

FONTE: Adaptado de A. H. Laustsen (2018).

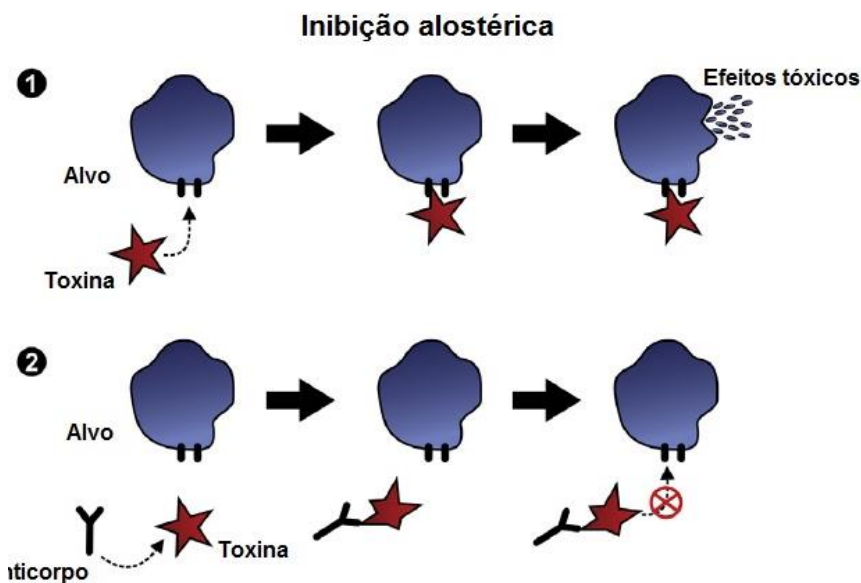
FIGURA 19. NEUTRALIZAÇÃO POR INIBIÇÃO DIRETA



Modos de neutralização: A. Inibição direta de toxinas não enzimáticas. (A1) A toxina não enzimática se liga ao seu alvo, resultando em um efeito tóxico. (A2) O anticorpo interfere com o sítio funcional da toxina não enzimática, impedindo a ligação da mesma ao alvo. **B. Inibição direta de toxinas enzimáticas.** (B1) Uma toxina enzimática se liga ao substrato, resultando a degradação do substrato. (B2) O anticorpo bloqueia (ou altera) o local catalítico da toxina enzimática, impedindo a degradação do substrato. **C. Inibição por impedimento estérico.** (C1) Uma toxina se liga ao alvo, resultando em um efeito tóxico. (C2) O anticorpo se liga a uma região próxima ao local de interação, impedindo que a toxina se ligue ao alvo.

FONTE: Adaptado de A. H. Laustsen (2018).

FIGURA 20. NEUTRALIZAÇÃO POR INIBIÇÃO ALOSTÉRICA



Modos de neutralização: Inibição alostérica. (1) Uma toxina se liga ao seu alvo, resultando em um efeito tóxico. (2) O anticorpo se liga a um local distal da toxina, induzindo alterações de conformação, resultando em uma toxina menos ou não-funcional.

FONTE: Adaptado de A. H. Laustsen (2018).

10. LIMITAÇÕES AO USO DE ANTICORPOS RECOMBINANTES MONOCLONAIS E FRAGMENTOS DE ANTICORPOS

Como representado na figura 17, a massa molecular dos anticorpos monoclonais varia de aproximadamente 25 kDa até 150 kDa (LAUSTSEN, *et al.* 2018). Já a massa molecular aproximada de toxinas é variável (MÉNDEZ, *et al.* 2018). Esta diferença de tamanho e massa molecular entre as diversas toxinas presentes em um único veneno dificulta o tratamento antiveneno com uso de mAbs uma vez que a neutralização acontecerá de forma específica a um único tipo de toxina sendo desta forma uma neutralização parcial do veneno e não completa, já que não abrange todas as toxinas presentes.

Diante da quantidade variável de toxinas presentes na composição molecular de um veneno discutidas no capítulo 9 e da especificidade singular observada em anticorpos monoclonais, a utilização de uma única forma recombinante de mAb como tratamento torna-se limitada ainda que sua empregabilidade ofereça as vantagens explanadas anteriormente.

Desta forma, devem ser empregadas diferentes formas recombinantes para a produção de um antiveneno visando a neutralização de uma maior quantidade de toxinas. No entanto esta alternativa torna-se desinteressante já que, conseqüentemente, o custo para a sua produção é elevado.

Portanto, a biotecnologia visa aprimorar o estudo, desenvolvimento e as aplicações dos anticorpos monoclonais tais como pesquisas voltadas à capacidade de reatividade cruzada de mAbs avaliando a possibilidade do reconhecimento de um domínio antigênico comum a mais de uma toxina. Pucca (*et al.* 2019) cita esta atividade em scFvs humanos específicos para veneno crotálico demonstrada por Silva (*et al.* 2018).

11. PORQUE AINDA A SOROTERAPIA CONVENCIONAL É O TRATAMENTO MAIS UTILIZADO

A internação das vítimas acontece quando estas se encontram em quadro grave. Segundo Carmo *et al.* (2016) em um levantamento de internações hospitalares decorrentes de acidentes envolvendo serpentes e escorpiões no período entre 2009 e 2011 no interior da Bahia, o tempo de internação de cada vítima foi de 4,6 dias, em média. Meschial *et al.* (2013) contabilizaram 344 internações de vítimas de acidentes envolvendo animais peçonhentos entre 2007 e 2011 no Hospital Regional de Maringá, Paraná, sendo os acidentes ofídicos responsáveis pelo maior número de internações com 121 registros. Estes acidentes exigem maior período de internamento, comparado aos acidentes envolvendo aranhas, cuja necessidade foi de, pelo menos, um dia de internamento (MESCHIAL, *et al.* 2013).

Dados de 2011, disponibilizados pelo Ministério da Saúde, mostram que o valor dos gastos com as internações de vítimas de acidentes envolvendo animais peçonhentos ultrapassou três milhões de reais (MESCHIAL, *et al.* 2013). O soro antiveneno custa aproximadamente entre US\$ 47,9 e US\$ 315 (LAUSTSEN, *et al.* 2018) dependendo do soro e da quantidade de ampolas utilizadas, e anticorpos recombinantes tem seu valor estimado entre US\$ 30 e US\$ 350 (LAUSTSEN, *et al.* 2018).

Considerando os altos valores de custo decorrentes de cada internação, além do valor gasto com soros antivenenos, questiona-se a escassez de

investimento e existência de pesquisas para métodos alternativos ao tratamento antiveneno visto que o valor aproximado atribuído aos anticorpos recombinantes ser semelhante ao atribuído para os soros. Justificando esta realidade podemos citar as privatizações e produções em pequena escala, resultando em altos custos, mencionadas por Salomão e colaboradores (*et al.* 2018).

Além disso, como apresentado no capítulo 11, o tamanho e a massa molecular dos anticorpos monoclonais variam assim como para as toxinas presentes nos venenos ofídicos, de escorpiões e aranhas, se tornando impossível a neutralização em massa por meio de uma única forma de anticorpo.

Outra observação neste contexto visa a predominância de animais peçonhentos tais como serpentes, escorpiões e aranhas em países tropicais, muitos dos quais contam com carência econômica e conseqüentemente científica, com o desenvolvimento de métodos alternativos ao tratamento antiveneno fragilizado. Ainda que, em 2017, a Organização Mundial da Saúde decretou as doenças ofídicas como negligenciadas, causando desta forma uma maior conscientização sobre o tema (PUCCA, *et al.* 2019).

12. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Casos de acidentes envolvendo animais peçonhentos possuem um antigo histórico mundial e apresentam muitos registros anualmente. Considerando que a soroterapia carrega diversas desvantagens como a natureza não humana dos componentes presentes nos soros utilizados para tratamento podendo induzir reações imunogênicas nas vítimas (ALIRAHIMI, *et al.* 2018), além da sua ausência em muitos sistemas de saúde (CHIPPAUX & HABIB, *et al.* 2015 e SALOMÃO, *et al.* 2018), fica evidente a importância do investimento em pesquisas e a continuidade do desenvolvimento de métodos alternativos para que alcancem toda a população necessitada e sejam altamente específicos e eficientes, além de menos invasivos de forma com que não provoquem reações imunogênicas no paciente.

A busca por anticorpos monoclonais e/ou recombinantes que apresentem reatividade cruzada (PUCCA, *et al.* 2019) parece ser uma

excelente alternativa para a pesquisa assim como estudos contínuos acerca da sua natureza, além do investimento necessário para testes pré-clínicos que avaliem a eficácia dos soros antivenenos (GUTIÉRREZ, *et al.* 2017).

REFERÊNCIAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. Elsevier, 9ª edição. 2019.

AHMAD, Z.A.; YEAP, S.K.; ALI, A.M.; HO, W.Y.; ALITHEEN, N.B.M.; HAMID, M. **scFv Antibody: Principles and Clinical Application**. *Clinical and Developmental Immunology*, v. 2012, 15 p., mar. 2012.

ALIRAHIMI, E.; LOMEDASHT, F.K.; SHAHBAZZADEH, D.; ANBOUHI, M.H.; CHAFI, M.H.; SOTOUDEH, N.; GHADERI, H. MUYLDERMANS, S.; BEHDANI, M. **Nanobodies as novel therapeutic agents in envenomation**. *General Subjects*, v. 1862, p. 2955-2965. 2018.

ANDRADE, E.F. **Desenvolvimento de fragmentos de anticorpos recombinantes para detecção e inibição da osteopontina**. 117 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

AZEVEDO, R.; AZEVEDO, F.R.; RAMALHO, R.D.; GOLDONI, P.A.M.; BRESCOVIT, A.D. **Acidentes causados por aranhas e escorpiões no Estado do Ceará, Nordeste do Brasil: casos subnotificados e superestimados baseados na distribuição geográfica das espécies**. *Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza*, v. 1, n. 2, p. 144-158, out./dez. 2017.

BAPTISTÃO, C.C.S.; SANT'ANNA, O.A.; MARCELINO, J.R., TAMBOURGI, D.V. **The history of antivenoms development: Beyond Calmette and Vital Brazil**. *Toxicon*, v. 150, p. 86-95, may. 2018.

BERNARDE, P.S. **Mudanças na classificação de serpentes peçonhentas brasileiras e suas implicações na literatura médica.** Gazeta Médica da Bahia, v. 81, n.1, p. 55-63, jan. 2011.

BRAZIL, T.K.; PORTO, T.J. **Os escorpiões.** Salvador: Edufba, 2010.

CALABRIA, P.A.L.; FALCÃO, L.H.A.L.S.; SILVA, M.C.A.M.; BARBARO, K.C.; MAURO, E.L.F.; MAGALHAES, G.S . **Design and Production of a Recombinant Hybrid Toxin to Raise Protective Antibodies against Loxosceles Spider Venom.** Toxins, v. 11, issue 2, feb. 2019.

CARMO, E.A.; NERY, A.A.; JESUS, C.S.; CASOTTI, C.A. **Internações hospitalares por causas externas envolvendo contato com animais em um hospital geral do interior da Bahia, 2009-2011.** Epidemiol. Serv. Saúde, v. 25, n. 1, p. 105-114, jan./mar. 2016.

CHAGAS, F.B.; D'AGOSTINI, F.M.; BETRAME, V. **Aspectos epidemiológicos dos acidentes por aranhas no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.** Evidência, Joaçaba, v. 10, n. 1-2, p. 121-130, jan./dez. 2010.

CHIPPAUX, J.P.; HABIB, A.G. **Antivenom shortage is not circumstantial but structural.** Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., v. 109, p. 747-748, oct. 2015.

CLEMENT, H.; FLORES, V.; DE LA ROSA, G.; ZAMUDIO, F.; ALAGON, A.; CORZO, G. **Heterologous expression, protein folding and antibody recognition of a neurotoxin from the Mexican coral snake *Micrurus laticorallis*.** J. Venom. Anim. Toxins Trop. Dis., v. 22, issue 1, sept. 2016.

CUPO, P.; MARQUES, M.M.A.; HERING, S.E. **ACIDENTES POR ANIMAIS PEÇONHENTOS: ESCORPIÕES E ARANHAS.** Medicina, Ribeirão Preto, v. 36, p. 490-497, abr./dez. 2003.

DEHGHANI, R.; KAMIABI, F.; MOHAMMADI, M. **Scorpionism by *Hemiscorpius* spp. in Iran: a review.** Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, v. 24, issue 8, may. 2018.

DINIZ, M.R.V.; PAIVA, A.L.B.; DUARTE, C.G.; NISHIYAMA, M.Y.; JR, M.A.M.; OLIVEIRA, U.; BORGES, M.H.; YATES, J.R.; AZEVEDO, I.L.J. **An overview of *Phoneutria nigriventer* spider venom using combined transcriptomic and proteomic approaches.** PLoS one, v. 13, issue 8, p. 1-29, aug. 2018.

DUARTE, C.G. ; BONILLA, C.; GUIMARÃES, G.; MACHADO DE AVILA, R.A.; MENDES, T.M.; SILVA, W.; TINTAYA, B.; YARLEQUE, A.; CHÁVEZ-OLÓRTEGUI, C. **Anti-loxoscelic horse serum produced against a recombinant dermonecrotic protein of Brazilian *Loxosceles intermedia* spider neutralize lethal effects of *Loxosceles laeta* venom from Peru.** Toxicon, v. 93, p. 37-40. 2015.

FAN, H.W.; MONTEIRO, W.M. **History and perspectives on how to ensure antivenom accessibility in the most remote areas in Brazil.** Toxicon, v. 151, p. 15-23, jun. 2018.

FUNASA. **Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos.** 2ª Ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, out. 2001.

FUNED. **Bula com informações ao Profissional de Saúde - soro antiofídico (pentavalente) e anticrotálico.** Fundação Ezequiel Dias. 2016.

GUERRERO-GARZÓN, J.F.; BÉNARD-VALLE, M.; RESTANO-CASSULINI, R.; ZAMUDIO, F.; CORZO, G.; ALAGÓN, A.; OLVERA-RODRÍGUEZ, A. **Cloning and sequencing of three-finger toxins from the venom glands of four *Micrurus* species from Mexico and heterologous expression of an alpha-neurotoxin from *Micrurus diastema*.** Biochimie, v. 147, p. 114-121, apr. 2018.

GUTIÉRREZ, J.M.; SOLANO, G.; PLA D.; HERRERA, M.; SEGURA, A.; VARGAS, M.; VILLALTA, M.; SÁNCHEZ, A.; SANZ, L.; LOMONTE, B.; LEÓN,

G.; CALVETE, J.J. **Preclinical Evaluation of the Efficacy of Antivenoms for Snakebite Envenoming: State-of-the-Art and Challenges Ahead.** *Toxins*, v. 9, issue 5, 163, may. 2017.

HEID, H.A.; THEAKSTON, R.D.G. **The management of snake bite.** *Bulletin of the World Health Organization*, v. 61, issue 6, p. 885-895. 1983.

HWANG, W.Y.K.; FOOTE, J. **Immunogenicity of engineered antibodies.** *Methods*, v. 36, issue 1, p. 3-10, may. 2005.

INDICATTI, R.P. **Aranhas do Parque Nacional do Itatiaia, Rio de Janeiro/Minas Gerais, Brasil.** ICMBio, MMA, Boletim de pesquisa do Parque Nacional do Itatiaia, n. 16, p. 1-35. 2013.

KARALLIEDDE, L. **Animal toxins.** *British Journal of Anaesthesia*, v. 74, p. 319-327. 1995.

KUNIYOSHI, A.K. **Eficácia do soro antibotrópico produzido no Instituto Butantan: obtenção, caracterização e neutralização de serinopeptidases de interesse do veneno de *Bothrops jararaca*.** 75 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Instituto Butantan, Instituto de Pesquisas Tecnológicas, Universidade de São Paulo. 2017.

LAUSTSEN, A.H.; GUTIÉRREZ, J.M.; KNUDSEN, C.; JOHANSEN, K.H.; MÉNDEZ, E.B.; CERNI, F.A.; JÜRGENSEN, J.A.; LEDSGAARD, L.; ESTEBAN, A.M.; Øhlenschläger, M.; PUS, U.; ANDERSEN, M.R.; LOMONTE, B.; ENGMARK, M.; PUCCA, M. B. **Pros and cons of different therapeutic antibody formats for recombinant antivenom development.** *Toxicon*, v. 146, p. 151-175. 2018.

MARQUES, C.H. **Aspectos fundamentais à implantação da tecnologia de produção de anticorpos monoclonais humanizados com potencial aplicação terapêutica.** 109 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de

Imunobiológicos) - Instituto de Tecnologia de Imunobiológicos, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2005.

MATSUBARA, F.H. **Clonagem e expressão heteróloga de um peptídeo da família das notinas presente no veneno da aranha marrom (*Loxosceles intermedia*)**. 86 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

MÉNDEZ, E.B.; MADSEN, A.F.; FONS, S.; LOMONTE, B.; GUTIÉRREZ, J.M.; LAUSTEN, A.H. **Innovative Immunization Strategies for Antivenom Development**. *Toxins*, v. 10, p. 452, nov. 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Acidentes por animais peçonhentos: o que fazer e como evitar**. Brasil. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/acidentes-por-animais-peconhentos>>. Acesso em: 04 jun. 2019.

MESCHIAL, W.C.; MARTINS, B.F.; REIS, L.M.; BALLANI, T.S.L.; BARBOZA, C.L.; OLIVEIRA, M.L.F. **Internações hospitalares de vítimas de acidentes por animais peçonhentos**. *Revista da Rede de Enfermagem do Nordeste*, v. 14, n. 2, p. 311-319. 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Controle de Escorpiões**. Série B. Textos Básicos de Saúde. 1ª Ed. Brasília: MS, 2009.

MUYLDERMANS, S.; BARAL, T.N.; CORTEZ RETAMOZZO, V.; DE BAETSELIER, R.; DE GENST, E.; KINNE, J.; LEONHARDT, H.; MAGEZ, S.; NGUYEN, V.K.; REVETS, H.; ROTHBAUER, U.; STIJLEMANS, B.; TILLIB, S.; WERNERY, U.; WYNS, L.; HASSANZADEH-GHASSABEH, GH.; SAERENS, D. **Camelid immunoglobulins and nanobody technology**. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 128, issues 1-3, p. 178-183. mar. 2009.

NISSIM, A.; CHERNAJOVSK, Y. **Historical Development of Monoclonal Antibody Therapeutics**. *Therapeutic Antibodies. Handbook of Experimental Pharmacology*, London, v. 181, p. 3-18. 2008.

NÓBREGA, V.M.; ALBUQUERQUE, S.G.E.; RODRIGUES, M.D.; BARROS, I.M.C.; MARQUES, M.F.L. **Epidemiologia do Araneísmo de 2005 a 2013 no Centro de Assistência Toxicológica, João Pessoa-PB, Brasil**. Revista Brasileira de Ciências da Saúde, v. 22, n. 1, p. 21-26. 2018.

OZKAN, O.; UZUN, R.; ADIGUZEL, S.; CESARETLI, Y. ERTEK, M. **Evaluation of scorpion sting incidence in Turkey**. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, v. 14, issue 1, p. 128-140, mar. 2008.

PARDAL, P.P.O. **Aspectos epidemiológicos e clínicos do escorpionismo na região de Santarém, Estado do Pará, Brasil**. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., v. 36, n. 3, p. 349-353, mai./jun. 2003.

PARDAL, P.P.O.; SILVA, C.L.Q.; HOSHINO, S.S.N.; PINHEIRO, M.F.R. **Acidente por cascavel (*crotalus sp*) em ponta de pedras, ilha do marajó, Pará-relato de caso**. Revista Paraense de Medicina, v. 21, n. 3, p. 69-73, jul./set. 2007.

PARDAL, P.P.O.; GADELHA, M.A.C.; MENEZES, M.M.G.O.; MALHEIROS, R.S.; ISHIKAWA, E.A.Y.; GABRIEL, M.D.G. **Envenenamento grave pelo escorpião *Tityus obscurus* Gervais, 1843**. Rev. Pan-Amaz. Saúde, v. 5., n. 3, p. 65-70. 2014.

PINHO, F.M.O.; PEREIRA, I.D. **Ofidismo**. Rev Ass Med Brasil, v. 47, issue 1, p. 24-9. 2001.

PUCCA, M.B.; CERNI, F.A.; JANKE, R.; MÉNDEZ, E.B.; LEDSGAARD, L.; BARBOSA, J.E.; LAUSTEN, A.H. **History of Envenoming Therapy and Current Perspectives**. Frontiers in immunology, 10:1598, jul. 2019.

RIBEIRO, L.A.; JORGE, M.T. **Acidente por serpentes do gênero *bothrops*: série de 3.139 casos**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 30, n. 6, p. 475-480, nov./dez. 1997.

RODRÍGUEZ, H.G.R.; MÉNDEZ, J.D. **Necrotic Araneism. A Review of the *Loxosceles* Genus. I. General Aspects, Distribution and Venom Composition.** Advances in Environmental Biology, v. 2., issue 1, p. 9-19. 2008.

SALOMÃO, M.G.; LUNA, K.P.O; MACHADO, C. **Epidemiology of accidents by venomous animals and distribution of antivenon: state of art and world status.** Rev. Salud Pública, v. 20, issue 4, p. 523-529, may. 2018.

SANT'ANNA, O.A.; FARIA, M. **The beguining of immunology: antisera and the characterization of specificity in the immune.** Rev. Med,São Paulo, v. 84, issue 1, p. 34-37. 2005.

SILVA L.C, PUCCA M.B, PESSENDA G., CAMPOS L.B., MARTINEZ E.Z., CERNI F.A., BARBOSA, J.E. **Discovery of human scFvs that cross-neutralize the toxic effects of *B. jararacussu* and *C. d. terrificus* venoms.** Acta Trop, v. 177, p. 66–73, jan. 2018.

SILVA, F.S.Q. **Avaliação da pureza de soros antiofídicos brasileiros e desenvolvimento de nova metodologia para essa finalidade.** 165 f. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008.

SILVA, R.M.L.; AMORIM, A.M.; BRAZIL, T.K. **Envenenamento por *Tityus stigmurus* (Scorpiones; Buthidae) no Estado da Bahia, Brasil.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 33, n. 3, p. 239-345, ma./jun. 2000.

SILVA, S.K. **Construção e caracterização de um *diabody* específico contra toxinas do veneno de *loxosceles intermédia*.** 64 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

SOARES, M.R.M.; AZEVEDO, C.S.; MARIA, M. **Escorpionismo em Belo Horizonte, MG: um estudo retrospectivo**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 35, n. 4, p. 359-363, jul./ago. 2002.

SOUZA, A.R.B.; BÜHRNHEIM, P.F.; LIMA, C.S.C. **Relato de um caso de latrodectismo ocorrido em Manaus, Amazonas, Brasil**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 31, n. 1, p. 95-98, jan./fev. 1998.

SOUZA, C.M.V. **Livro de resumos Seminário sobre Vigilância de Acidentes por Animais Peçonhentos 2017**. Niterói, Rio de Janeiro: Vital Brazil, 2018.

SOUZA, R.C.G. Aspectos Clínicos do Acidente Laquético. In: CARDOSO, J.L.C.; FRANÇA, S.F.O.; WEN, F.H.; MÁLAQUE, C.M.S.; HADDAD JUNIOR, V. (2ª Ed). **Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2009. p. 97-107.

SUNTRARACHUN, S.; TIRAWATNAPONG, T.; KHUNSAP, S.; PUEMPUMPANICH, S. **cDNA cloning, sequencing, and expression of α - and β -neurotoxins from Thai-Malayan krait**. Indian J. Biotechnol, v. 9, issue 1, p. 31–37, jan. 2010.

TORRES, J.B.; MARQUES, M.G.B.; MARTINI, R.K.; BORGES, C.V.A. **Acidente por *Tityus serrulatus* e suas implicações epidemiológicas no Rio Grande do Sul**. Rev. Saúde Pública, v. 36, n. 5, p. 631-633, mai. 2002.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ (UFPA). Laboratório de Entomologia Médica e Animais Peçonhentos (LEMAP). **Projeto de estudo genético de *Tityus obscurus***. Pará. Disponível em: <<https://lemap-ufpa.webnode.com/projeto-estudo-genetico-de-tityus-obscurus/>>. Acesso em: 02 mai. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Progress in the Characterization of Venoms and Standardization of Antivenoms.** Geneva. WHO Offset Publication, n. 58. 1981.

HWANG, W.I.K.; FOOTE, J. **Immunogenicity of engineered antibodies.** *Methods*, v. 36, issue 1, p. 3-10, may. 2005.