

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

COMPARATIVO ENTRE DOIS PADRÕES DE SÍNTESE CUTÂNEA
E TRÊS TIPOS DE MATERIAL DE SÍNTESE EM
SERPENTES *Bothropoides jararaca*

Autor: Paulo Bertram Garcia

Orientador: Emerson Antonio Contesini

PORTO ALEGRE

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

COMPARATIVO ENTRE DOIS PADRÕES DE SÍNTESE CUTÂNEA E TRÊS
TIPOS DE MATERIAL DE SÍNTESE EM SERPENTES *Bothropoides jararaca*

Autor: Paulo Bertram Garcia

Dissertação apresentada como
requisito parcial para obtenção
de grau de Mestre em Ciências
Veterinárias na área de Cirurgia
Veterinária.

Orientador: Emerson Antonio Contesini

PORTO ALEGRE

2012

CIP - Catalogação na Publicação

Bertram Garcia, Paulo
COMPARATIVO ENTRE DOIS PADRÕES DE SÍNTESE CUTÂNEA
E TRÊS TIPOS DE MATERIAL DE SÍNTESE EM SERPENTES
Bothropoides jararaca / Paulo Bertram Garcia. --
2012.
72 f.

Orientador: Emerson Antonio Contesini.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,
Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Cirurgia. 2. Cicatrização. 3. Serpente. 4.
Materiais de Síntese. I. Antonio Contesini, Emerson,
orient. II. Título.

Paulo Bertram Garcia

COMPARATIVO ENTRE DOIS PADRÕES DE SÍNTESE CUTÂNEA E TRÊS
TIPOS DE MATERIAL DE SÍNTESE EM SERPENTES *Bothropoides jararaca*

Aprovada em: _____

APROVADO POR:

Prof. Dr. Emerson Antonio Contesini

Prof. Dr. Carlos Afonso de Castro Beck

Prof^ª. Dra. Ana Cristina Pacheco de Araújo

Prof. Dr. André Silva Caríssimi

DEDICATÓRIA

Centenas de linhas seriam insuficientes para escrever aquilo que deveria dedicar a todos os que me ajudaram.

Sem dúvida nenhuma merecem destaque meus pais, Cilon e Ana. Simplesmente por serem quem são, darem exemplo do que é dignidade e afeto, mostrarem que na vida passamos por inúmeras dificuldades mesmo, mas o que vale é que superemos de uma forma ou outra os obstáculos.

Ao meu pai que sempre foi um homem digno, honesto e trabalhador, o que não poderia ser um melhor exemplo. Pela paciência, que a cada ano que passa cresce em seu coração e por mostrar-me todos os dias o sentido verdadeiro de ser pai – em toda a sua plenitude – e por expor o quanto somos semelhantes, dentro das nossas diferenças.

À minha mãe cujo apoio foi e é fundamental. Por toda a alegria que me é insuportável às manhãs, mas me faz tão bem no resto do dia, pelas lentilhas e bolos de cenoura, por ter insistido em comprar as tecnologias que eu insistia em não aderir – e que vieram a ser tão úteis – e natürlich bei mir um Deutsch zu sprechen. Ein mol hab´ ich g´dacht, dass es sehr wichtig´ wôa, aber “Himmle, alle Welt!”, es ist ewa gut und nutzlich. Viele Türe mach sich uf deswegen. Auch geboa Bertram tut´s gut!

Ao meu orientador minha dedicatória se assemelha àquela feita ao meu pai, porque fui tratado como um filho durante meu mestrado. Os puxões de orelha, os diálogos, os risos, os imensos pedidos de “juízo”, tudo foi confortante e, sem dúvida, educador. Com meu orientador aprendi cirurgia, também “a etiqueta” acadêmica, a modulação nas horas certas, certas atitudes como Médico Veterinário. Por ter concordado em trabalhar com serpentes, mesmo tendo certo receio com o trato mais próximo, realizou um sonho meu já antigo. Ficou uma grande amizade, um imenso carinho que será lembrado com alegria nos meus próximos passos.

Obviamente eu devo deixar aqui registrado meu muito obrigado ao Professor Doutor David Barcellos e Professor Doutor Cláudio Wageck Canal que de forma direta ou indireta me deram a oportunidade de estar aqui escrevendo uma dedicatória para minha dissertação de mestrado.

Às serpentes que são os animais mais belos da natureza, que expressam de forma particular suas emoções e cujo veneno usa somente para proteção e alimentação, embora todos pensem o contrário. Pois é guriasinhas, qualquer semelhança é mera coincidência.

Às biólogas do NOPA Maria Lúcia e Moema. Muito obrigado pelo apoio e por cederem os animais. Obrigado por proporcionarem este trabalho fantástico e fascinante e me ensinarem a tratar e manejar esses bichinhos.

Sem dúvida levo da UFRGS um título de mestre na pasta e grandes amigos no coração: Monalysa Candori, Cláudio Mountassier, Fernanda Loss, Giordano Gianotti e Marianne Lamberts. Os colegas de orientação Priscila, Tuane, Anelise, Wanessa, além dos outros do PPG como Paulo Albuquerque, Rose, Verônica.

Dedico às minhas colegas de trabalho Juliana Martins e Ketlen Rost que me apoiaram e me ajudaram a transpassar obstáculos, fazem minha sexta e sábado serem especiais, com nossos divertidos almoços no natureba.

Dedico ao pessoal do bloco de ensino Mari e ao Alexandre. Vou sentir saudades dos puxões de orelha da Mari que só faziam deixar mais divertido o ambiente de trabalho.

Aos amigos Theo Barcellos e Rosimara Condotta, Margarete Monteiro e Anelise Horn.

Muito Obrigado!

Vielen Dank!

Thanks!

Merci beaucoup!

Большое спасибо!

EPÍGRAFE

O Dr. Milmales esperava Tistu atrás de sua grande mesa niquelada, repleta de livros.
— Então, Tistu — perguntou ele — que foi que você aprendeu? Que sabe de medicina?
— Aprendi — respondeu Tistu — que a medicina não pode quase nada contra um coração muito triste. Aprendi que para a gente sarar é preciso ter vontade de viver. Doutor, será que não existem pílulas de esperança?

O Dr. Milmales ficou espantado com tanta sabedoria num garoto tão pequeno.
— Você aprendeu sozinho a primeira coisa que um médico deve saber.

— E qual é a segunda, Doutor?

— É que para cuidar direito dos homens e preciso amá-los bastante.

Ele deu um punhado de caramelos a Tistu e pôs uma boa nota em seu caderno.

Mas o Dr. Milmales ficou ainda mais espantado no dia seguinte, quando entrou no quarto da menina.

Ela sorria: tinha despertado em pleno campo.

Narcisos brotavam em torno à mesa de cabeceira. Os cobertores eram um edredom de pervincas, a grama crescia no tapete. E finalmente a flor, a flor em que Tistu se desvelara, uma esplendida rosa, que não parava de se transformar, de abrir uma folha ou um botão, e que subia pela cabeceira da cama, ao longo do travesseiro. A menina já não olhava o teto; ela contemplava a flor.

De noite suas pernas começaram a mover-se. A vida era boa.

Livro: O Menino do Dedo Verde

Autor: Maurice Druon

“Das Unmöglich machen wir sofort. Wunder dauert etwas länger.”

Adágio alemão

RESUMO

Com o objetivo de avaliar dois tipos de sutura e três tipos de material de síntese, foram ambientadas 16 serpentes da espécie *Bothropoides jararaca* em um recinto em anexo ao bloco cirúrgico de ensino e pesquisa da Faculdade de Veterinária da UFRGS. Após a adaptação os animais foram submetidos à neuro-leptoanalgesia e foram feitas cinco incisões de cinco cm ao longo da serpente. Cada incisão foi suturada de maneira diferente usando as combinações aposição-mononáilon, aposição-ácido-poliglicólico, aposição-octil-2-cianoacrilato, eversão-mononáilon e eversão-ácido-poliglicólico. Foram feitas duas biópsias e a cicatrização cirúrgica foi avaliada clínica e histologicamente. Cada amostra foi analisada individualmente, recebendo escore relativo à presença de heterófilos, macrófagos, linfócitos e fibroblastos e esses resultados foram submetidos análise estatística. Além disso, foi avaliado o conjunto de reações celulares e sua evolução no tempo. Clinicamente houve diferença significativa entre os tipos de suturas, onde o padrão aposicional cicatrizou de maneira mais efetiva e desejável comparado ao de eversão, que dificultou as ecdises e fez uma cicatriz menos estética. Histologicamente não houve significância na reação aos diferentes tipos de materiais testados, porém em três semanas foi encontrada uma quantidade de linfócitos e heterófilos superior comparado às amostras em seis semanas.

Palavras-chave: cicatrização, cutânea, serpentes, jararaca, cirurgia

ABSTRACT

*Wondering how the skin of snakes healing comparing two different kinds of closure and three different kinds of materials, sixteen snakes *Bothropoides jararaca* were housing in a room at the Veterinary College of the Federal University of Rio Grande do Sul. After adaptation period the surgeries were performed. Under anesthesia, five incisions along the snake, five centimeters long, were made and then sutured with five different combinations: aposicion-mononylon, apocision-poliglicolic acid, aposicion-octil-2-cianoacrilate, eversion-mononylon and eversion-poliglicolic acid. Two biopsies were made, three and six weeks after surgery. The snakes were clinically checked to evaluate the evolution of healing. All the samples were individually evaluated quantitatively observing macrophages, heterophiles, lymphocyt and fibroblasts and received a score. These result were submitted to the statistic analyses. There was a clinical relevance comparing the aposicional suture over the eversion suture, wich means that the aposicional suture healed much better than the evertion suture, facilitating the ecdise and even giving much better esthetic appearance to the wound. Unlike the eversion suture, wich made the ecdise more difficult and gave to the wound a non-plastic appearance. Comparing materials there were no significant difference between them, despite the octil-2-cianoacrilate that gave to the wound a great appearance. The histology did not shown any significant difference, exception to the time of the wound, where the lymphocyt and heterophiles had a higher presence in the thirty week compared to the sixth week. In three weeks the fibloblasts were dispersed in the tissue, unlike in six weeks, they were much more organized.*

Key-words: healing, cutaneous, snake, jararaca, surgery

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1	Os Répteis.....	13
2.1.1	Generalidades em Vida Livre.....	13
2.1.2	Alimentação em vida livre.....	13
2.1.3	A serpente <i>Bothropoides jararaca</i>	14
2.1.4	A Pele dos Répteis.....	15
2.1.5	Criação em Cativeiro.....	16
2.1.6	Particularidades cirúrgicas.....	18
2.1.7	Ecdise.....	20
2.2	Cicatrização Cutânea.....	21
2.3	Materiais de Síntese.....	28
3	OBJETIVO GERAL.....	30
3.1	Objetivos específicos.....	30
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
4.1	Animais-Modelo.....	31
4.2	Manejo Geral.....	31
4.2.1	Recinto.....	31
4.2.2	Temperatura.....	33
4.2.3	Ambientação.....	33
4.2.4	Identificação individual.....	34
4.2.5	Alimentação.....	35
4.2.6	Materiais de Manejo Geral.....	35
4.2.7	Limpeza e Desinfecção.....	37
4.2.8	Tratamentos Prévios.....	38
4.3	Cirurgias.....	38
4.4	Biópsias.....	42
4.5	Exame Histopatológico.....	43
4.6	Análise Estatística.....	43
5	RESULTADOS.....	44
5.1	Aspectos de Ambientação.....	44
5.1.1	Piso.....	44

5.1.2	Identificação.....	44
5.1.3	Alimentação.....	45
5.1.4	Ambientação.....	45
5.1.5	Comportamento Geral.....	45
5.1.6	Peso.....	46
5.2	Aspectos Clínicos Gerais.....	47
5.2.1	Contaminação Fúngica.....	47
5.2.2	Curativo Cirúrgico.....	47
5.3	Aspectos clínicos das feridas cirúrgicas.....	47
5.3.1	Sutura Aposicional.....	48
5.3.2	Sutura de Eversão.....	49
5.3.3	Ecdise.....	51
5.4	Biópsias.....	51
5.5	Aspectos Histopatológicos.....	52
5.6	Estatística.....	54
5.7	Óbitos.....	54
6	DISCUSSÃO.....	55
6.1	Aspectos de Ambientação.....	55
6.2	Aspectos Clínicos Gerais.....	59
6.3	Aspectos Clínicos das Feridas Cirúrgicas.....	60
6.4	Biópsias Cutâneas.....	63
6.5	Aspectos Histopatológicos.....	64
6.6	Óbitos.....	65
7	CONCLUSÃO.....	66
8	REFERÊNCIAS	67
9	ANEXO.....	70

1 INTRODUÇÃO

Serpentes e outros répteis raramente eram trazidos à convivência do homem. Foi há pouco tempo que estes ganharam status de animais de estimação de uma maneira mais generalizada e, com a convivência, surgiram também os problemas decorrentes do confinamento e a necessidade de tratar as enfermidades que na natureza seriam eliminadas naturalmente pelas leis que regem a vida selvagem. Muitos dos problemas decorrentes do mau manejo passam pela área cirúrgica para correção. Há diversos empecilhos no estudo de especialidades cirúrgicas destes animais: além da dificuldade de obtenção para estudo, são exigentes no momento de manutenção em cativeiro e o número de cirurgias feitas em répteis é centenas de vezes inferior ao de animais domésticos, desestimulando os estudos.

Répteis são criados por sua beleza, variação de cor ou simplesmente por serem diferentes dos outros animais. A medicina de répteis tornou-se um ramo da medicina veterinária bastante específico e desenvolvido especialmente para suas características únicas (JUDAH e NUTTALL, 2008).

Serpentes são répteis da ordem Squamata, que se caracterizam por terem corpo alongado, língua bífida, órgãos internos alongados, com perda de simetria ou função de um dos pares, como pulmões e rins. (LEMA, 2002). Não possuem bifurcação traqueal nem diafragma, utilizando como alternativa os músculos intercostais (JUDAH e NUTTALL, 2008). São predominantemente carnívoras e predadoras, tendo grande variabilidade de espécies animais em sua dieta. (LEMA, 2001). Os dentes são perdidos e repostos durante toda a vida (JUDAH e NUTTALL, 2008). Ocorrem em diversos microambientes (LEMA, 2002). Têm visão pobre e audição limitada a sons de baixa frequência. O órgão de Jacobson, perto da língua, é altamente desenvolvido como órgão de sentido. O crânio é bastante móvel e a mandíbula se articula independentemente da mandíbula, permitindo que a serpente ingira a presa. Uma serpente com fome pode vir a bocejar frequentemente, porém após a refeição tendem também a bocejar para reposicionar anatomicamente as mandíbulas (JUDAH e NUTTALL, 2008).

A cicatrização em répteis ainda é pouco estudada quando comparada à cicatrização em mamíferos. Pouco se sabe sobre diferentes materiais de síntese e sua reação tissular em cada espécie réptil. A pele dos répteis tende a se inverter quando feito um corte cirúrgico, por isso é recomendado que a sutura faça oposição ao

comportamento natural da pele, evertendo-a e mantendo-a evertida para a cicatrização ocorrer de maneira eficaz, sem deiscência (MADER, 2006).

Materiais de síntese são utilizados para aproximar os bordos da ferida, criada ou não pelo cirurgião, com o objetivo de acelerar a cicatrização. Diversos materiais são utilizados com este objetivo, cada um com suas particularidades e o conhecimento dos materiais e suas relações com os diversos tecidos do corpo são fundamentais para o sucesso da síntese (BOOTHE, 2007).

Através deste experimento buscamos entender melhor como ocorre a cicatrização na pele de serpentes, bem como o melhor tipo de sutura e o material de síntese que é menos reativo à cútis, utilizando como modelo a espécie *Bothropoides jararaca*. O padrão aconselhado para síntese é o de eversão, pois a pele dos répteis tende a inverter quando incisionada. Deste modo foi comparado a síntese cutânea utilizando os padrões isolado simples e de Wolff e a reação tecidual frente aos fios nylon e ácido poliglicólico e a cola cirúrgica octil-2-cianoacrilato.

Não foram encontrados estudos que comparassem tipos diferentes de sutura e reações tissulares em serpentes, nem dados publicados que assegurem qual o melhor tipo de síntese ou material a ser utilizados nestes animais. Este trabalho visa contribuir para a melhoria da metodologia da cirurgia aplicada às serpentes de modo a proporcionar um melhor meio de síntese cutânea para esta espécie animal.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Os Répteis

2.1.1 Generalidades em Vida Livre

Há mais de 7.000 espécies de répteis, cuja variabilidade inclui tamanho, forma, fisiologia e dieta, além das exigências de ambientação (MADER, 2006). No Rio Grande do Sul (RS) há 111 espécies de répteis catalogadas até o momento, 73 das quais são serpentes (BORGES-MARTINS apud LEMA, 1994; DI BERNARDO et al., 2004). As famílias Colubridae, Viperidae e Elapidae são as mais bem representadas (BORGES-MARTINS et al., 2007). A maior diversidade de animais está nos trópicos e decresce conforme aproximação aos pólos. Ao frio intenso, esses animais procuram abrigos em locais profundos do solo, troncos grossos, cupinzeiros, formigueiros, sob cascas grossas de grandes árvores, cavernas e galerias subterrâneas. Nas regiões onde há temperaturas negativas, os répteis hibernam e o alimento armazenado nos tecidos é recrutado, lenta e automaticamente pelo corpo para manter mínimo metabolismo. Nas regiões desérticas e quentes, têm o hábito de dormir durante o dia, protegendo-se do calor excessivo e exercer atividade durante a noite (LEMA, 2002).

Répteis são animais ectodérmicos, usam o calor do meio para regular sua temperatura corporal e manter sua fisiologia ativa. A imunidade humoral e a celular são dependentes da temperatura corporal adequada. A maioria dos répteis têm necessidade fisiológica de foto-período e alguns têm na região dorsal da cabeça, o chamado olho pineal que capta a variação de luz do ambiente (MADER, 2006). No RS, há variações climáticas regionais e, conseqüentemente, variações comportamentais da fauna herpética. Por exemplo, as temperaturas baixas do inverno no planalto e as correntes dos ventos da Cordilheira dos Andes sobre os campos abertos da depressão central, praticamente, determinam o desaparecimento da herpetofauna (LEMA, 2002).

2.1.2 Alimentação em vida livre

Répteis são predominantemente predadores, porém alguns são onicarnívoros e eurípagos, mas alguns são especialistas e comem somente determinado tipo de vertebrado ou invertebrado. Há os malacófagos, batracófagos, herpetófagos, ofiófagos,

sauriófagos, ornitófaos, rodentófaos, oófagos e outros. De um modo geral, os répteis se alimentam eventualmente e podem passar meses em anorexia fisiológica. O trato gastrintestinal tem diversas glândulas salivares e digestivas e o alimento digerido é armazenado em nível celular. A serpente *Bothropoides jararaca* apresenta alimentação ontogênica, cuja dieta varia conforme a idade: quando jovem alimenta-se de animais de sangue frio (pequenos anfíbios) e na idade adulta, de roedores (LEMA, 2002). Ressalta-se que a maioria dos estudos sobre hábitos alimentares de serpentes consiste em achados de conteúdo gastrintestinal de animais tombados de coleções¹.

2.1.3 A serpente *Bothropoides jararaca*

Fenwick et al. (2009) revisaram a filogenia de serpentes através de parâmetros moleculares e morfológicos, ocasião em que renomearam a espécie para *Bothropoides jararaca*.

O site do Projeto Cobras Brasileiras, escrito e revisado por pesquisadores experientes na área, descreve a serpente como escamada, pertencente à família Viperidae, cor predominantemente parda com manchas triangulares no corpo, faixa preta horizontal caudal ao olho e escamas ocres uniformes peribucais. Nos jovens, a ponta da cauda é branca. É uma serpente esbelta, comprimento máximo 1,60 metros, vivípara, hábitos terrestres e diurnos. Possuem desenhos que formam pequenos “V”s invertidos pelo corpo todo, como mostra a figura 1.

Nos ofídios, há tendência alongada na conformação dos órgãos, os quais perdem simetria, podendo haver atrofia de um dos órgãos pares. Pode existir mais de uma centena de vértebras e costelas que são livres e auxiliam na locomoção do animal; não há esterno (LEMA, 2002).

¹ Nota do Autor

Figura 1 A serpente *Bothropoides jararaca*. Reparar no desenho em "V" invertido ao longo do corpo do animal.



Bothrops
jararaca

WWW.COBRASBRASILEIRAS.COM.BR

2.1.4 A Pele dos Répteis

A estrutura básica da pele é similar a dos mamíferos (SMITH e BARKER, 1988). Sendo na escala evolutiva uma das primeiras classes a trocarem o ambiente aquático pelo terrestre, a pele assume caráter essencial na boa adaptação ao meio, por todas as suas funções (MADER, 2006). O epitélio é fino, tem camada basal germinativa simples com uma ou duas camadas de células cobertas por duas zonas de queratina (SMITH e BARKER, 1988). Sendo extremamente queratinizada, protege contra dessecação, abrasão e radiação ultravioleta, além de fornecer uma barreira impermeável à microorganismos. É recoberta por escamas que, ao contrário dos peixes, têm origem ectodérmica. As escamas podem variar grandemente em tamanho e forma ao longo do corpo do animal (MADER, 2006). A derme é mais fina e menos vascularizada do que a de mamíferos e tem grandes superfícies pigmentadas com populações de cromatócitos, iridócitos e lipócitos (SMITH e BARKER, 1988). É composta por tecido mesenquimal (maioria em tecido conectivo) que abrange vasos sanguíneos, linfáticos, nervos e

cromatóforos. Há poucas estruturas glandulares e a derme é aderida à musculatura subjacente por uma fina camada de tecido conjuntivo frouxo. Glândulas cutâneas são raras nos répteis, variando conforme a espécie. Além de todas as funções, ela também serve como órgão de sentido, já que é muito bem inervada e frequentemente associada com estruturas sensitivas que se diferenciam histológica e embriologicamente entre as serpentes. (MADER, 2006).

2.1.5 Criação em Cativeiro

A única forma adequada para manutenção e criação de animais silvestres em cativeiro inclui a construção e manutenção de recintos que proporcionem condições que se assemelhem ao máximo com as do ambiente natural de vida livre da espécie em questão. Porém, há grande número de animais que podem se adaptar a condições satisfatórias de criatórios (MADER, 2006).

Diferentemente dos animais domésticos, os répteis, exatamente como muitos outros animais silvestres, não conviveram com humanos durante séculos e, por isso, não desenvolveram tais adaptações (MADER, 2006). Frye (2007) relatou que o confinamento *per se* é um importante fator estressante que frequentemente causa alterações comportamentais e sérias consequências. O sucesso de um habitat artificial também depende do conhecimento e da sensibilidade da pessoa que o maneja rotineiramente.

Leitão de Araújo e Ely (1980) experimentaram manter algumas espécies de serpentes em gaiolas de madeira e aquários de vidro com tampa de tela. Após um período de quarentena, os ofídios foram transferidos para o recinto definitivo, com temperatura de 20 a 30°C. A alimentação foi quinzenal, uma ou duas presas por vez e a água trocada diariamente. Foram observadas as mudas e efetuadas extrações de veneno. Concluíram que, em cativeiro, os animais alimentam-se regularmente, durante todo o ano, exceto as *Bothropoides jararaca* no mês de julho.

Segundo Lema (2002), em cativeiro, os animais adaptam-se aos alimentos fornecidos, desde que respeitados os princípios básicos das espécies. Assim, uma serpente que ingere roedores em vida livre, adapta-se facilmente em cativeiro com roedores de criatórios científicos. Frye (2007) relata que serpentes predadoras de roedores, se satisfeitas, não picam a presa. Roedores e lagomorfos são mais inteligentes que serpentes e podem infringir ataques massivos contra elas e causar séria injúria, sem

que a serpente revide. Portanto recomenda-se alimentação assistida\ ou fornecimento de animais recentemente mortos.

Segundo Mader (2006), apesar dos répteis perderem mínima quantidade de água pela pele e respiração, deve-se sempre manter a umidificação do ambiente, pois longos períodos em ambientes com baixa umidade relativa do ar, para animais que vivem em ambientes com alta umidade relativa, podem causar doenças renais. Portanto, recomenda-se o uso de vaporizadores e umidificadores que mantêm a umidade adequada e não interferem com a ventilação. Porém, Frye (2007) ressalta que animais de ambientes áridos podem desenvolver uma série de desordens, se submetidos a ambientes úmidos. Para Mader (2006) a ventilação do ambiente cativo é importante para evitar o acúmulo de bactérias patogênicas. Inversamente ao que muitos acreditam, um ambiente livre de bactérias não é desejável, pois deve haver competição bacteriana para manutenção da flora patogênica. Um ambiente limpo é o ideal. Para manter essas condições, podem ser usados diferentes tipos de substratos.

A temperatura ambiental ótima varia com a espécie. Mesmo assim, um gradiente de calor deve ser desenvolvido no ambiente onde répteis serão mantidos, pois, muitas vezes, têm necessidade de fonte de calor extra (MADER, 2006). Segundo Frye (2007) se a fonte de calor for por contato direto e apresentar temperaturas altas demais ou se simplesmente à temperatura que se oferece for alta demais, os animais podem ficar em contato ou próximos desta fonte sendo literalmente cozidos vivos sem expressarem reflexo de retirada. O motivo dos répteis não responderem ao estímulo intenso do aquecimento ainda não está esclarecido e, por isso, devemos tomar medidas que impeçam as queimaduras. Esses mesmos equipamentos podem causar eletrocussão, que normalmente é fatal. Fios e conexões imperfeitos podem difundir a eletricidade pelo substrato úmido do recinto. O cuidado ao instalar aparelhagem elétrica é fundamental para segurança dos animais e tratadores.

Frye (2007) relata que répteis pouco adaptados tendem a adquirir comportamentos estranhos, como circular no perímetro do cativeiro numa tentativa aparente de escapar. Mais uma vez, ressalta-se a importância de observar as necessidades de cada espécie; por exemplo, espécies muito ativas necessitam ambientes espaçosos. Os erros nos detalhes podem promover estresse e o animal pode adquirir hábitos estereotipados, tais como empurrar constantemente objetos, esfregar a região da face, ou outros vícios de movimento. Essas situações podem causar abrasões cutâneas, cujos locais afetados sofrem dessecação e infecção secundária. Esconderijos

proporcionam refúgio, tranquilidade e conforto aos répteis. Mesmo espécies não agressivas, quando submetidas a aglomerações, devem ser mantidas em ambientes enriquecidos com galhos, pedras, troncos não resinosos, etc., para que os animais se distribuam no seu microambiente de maneira a evitar comportamentos atípicos.

2.1.6 Particularidades cirúrgicas

Mader (2006) cita que mesmo com o advento da endoscopia, a cirurgia em répteis continua sendo feita largamente pela técnica tradicional. Píparo (2007) relatou que os equipamentos usados na cirurgia devem se adequar a cada animal. A preparação do paciente antes da cirurgia é vital e o animal deve estar em boas condições gerais em cirurgias eletivas ou não-emergenciais. Segundo Mader (2006), o jejum prévio é desnecessário, pois répteis não regurgitam por ação anestésica e serpentes passam semanas sem se alimentar. Jejum só é indicado quando em cirurgias do trato gastrointestinal. Tanto Píparo (2007), quanto Mader (2006) recomendaram a anti-sepsia da pele com clorexidine aquecido e escova macia, pois a pele escamada forma fissuras que são dificilmente atingidas mesmo com escova, além disso, há microbiota rica na superfície cutânea. Píparo (2007) relata que a microbiota cutânea dos répteis inclui estafilococos, estreptococos, clostrídios e bactérias gram-negativas. Nos mamíferos, a população bacteriana total da pele é de 20%, pois o restante se nos concentra pelos, diferentemente dos répteis. Mader (2006) afirmou ainda que talvez seja complicado fazer uma boa anti-sepsia. Sendo assim, devem-se administrar antimicrobianos parenterais preventivos. Píparo (2007) complementou que os agentes químicos para uma boa anti-sepsia podem ser também iodopovidine e derivados de amônia quaternária e que esses agentes devem ser aquecidos a 35-40°C.

Em todos os casos, bolsas de água quente, almofadas térmicas ou qualquer outra fonte de calor devem ser providenciadas para manter uma boa taxa metabólica, facilitar a eliminação de drogas e a recuperação pós-operatória (PÍPARO, 2007). Mader (2006) e Píparo (2007) concordaram que os métodos de monitoramento trans-operatório são idênticos aos de mamíferos, como também os métodos de isolamento do local cirúrgico com panos de campo, que podem ser plásticos ou não. Também concordaram quanto à possibilidade das pinças de campo causar injúria, pois o tecido subcutâneo dos répteis é praticamente inexistente e há risco de atingir algum órgão interno. Píparo (2007) citou que os métodos de hemostasia são muito parecidos aos feitos em mamíferos, com a

particularidade de que o edema causado pela aplicação de calor para oclusão de pequenos vasos não se aplica aos répteis. Cotonetes estéreis também podem ser usados.

Mader (2006) descreveu o acesso cirúrgico para celiotomia em serpentes entre as escamas dorsais e ventrais, sendo possível acessar qualquer órgão ao longo do corpo da serpente por tal via. Além disso, é mais fácil manter boa higiene da ferida cirúrgica por não haver contato direto com o solo e a ferida é menos atingida pelos movimentos naturais da serpente nesta abordagem. Os materiais de sutura utilizados são os disponíveis no mercado, sendo esperado que materiais que são absorvíveis em mamíferos podem não o ser em répteis, ou podem ter sua absorção prolongada. Não existem estudos específicos quanto a materiais de sutura em serpentes (MADER, 2006; PÍPARO, 2007). Suturas com mononáilon e polipropileno são as preferíveis (MADER, 2006)

O pós-operatório inclui oferecimento de local com temperatura acima da média ideal para a espécie para favorecer a cicatrização. Os animais podem ter anorexia pós-operatória, o que pode forçar a conduzir-se alimentação por sonda orogástrica ou por esofagostomia. Não se observa comportamento de automutilação, ou tentativa de remoção dos pontos como nos mamíferos e aves. Isso não deve ser interpretado como ausência de dor, portanto a dor deve ser tratada devidamente (MADER, 2006; PÍPARO, 2007). Mader (2006) disse que as fases de cicatrização em répteis são muito semelhantes às fases em mamíferos. Porém Smith e Barker (1988) discordaram e referem existir grandes diferenças na fisiologia e biologia cutânea entre répteis e mamíferos, o que pode influenciar na interpretação da cicatrização, mas todos esses autores concordam que a temperatura do meio influi diretamente sobre a velocidade e efetividade da cicatrização cirúrgica nos répteis. A direção da ferida cirúrgica também influi na velocidade de cicatrização, as feridas crânio-caudais cicatrizam mais rapidamente do que as dorso-ventrais. Embora répteis não costumem mexer nas suturas cutâneas como mencionado, a proteção deve ser feita devido às bactérias ambientais. A remoção das suturas geralmente é feita em quatro a seis semanas pós-cirurgia. Em répteis Squamata, a remoção das suturas após a primeira ecdise pós-cirúrgica parece ser vantajosa (MADER, 2006).

Smith e Barker (2006) compararam diferentes cicatrizações de dois diferentes tipos de ferida, com os animais submetidos a três temperaturas diferentes. Métodos de coloração de tecidos aplicados a cortes histológicos da região em processo de cicatrização incluíram hematoxilina-eosina. Alguns foram corados com ácido periódico

de Schiff, tricômio de masson, tricômio de Lillie, Hematoxilina-ácido fosfotúngstico, azul de Escarlete de Martiuse para diferenciar os componentes dos tecidos de cicatrização cicatriciais. Foi observada microscopicamente a distribuição dos cromatócitos, estágio do ciclo do epitélio, aposição das margens da ferida, presença de crosta superficial, migração dos heterófilos pelo epitélio, presença de edema na derme, presença de fibrina e granulomas e natureza do tecido predominante na ferida (inflamatório, fibroblástico, ou tecido conectivo organizacional), além de áreas da derme contendo grandes quantidades de heterófilos e macrófagos (SMITH e BARKER, 1988)

2.1.7 Ecdise

A ecdise é periódica e completa nas serpentes. O primeiro sinal do início dela está nos olhos que tornam-se opacos e momentos depois a pele também toma este aspecto. As mudas são completas e sem problemas quando o animal está em bom estado e são associadas com boa condição corporal (MADER, 2006).

O ciclo da ecdise é dividido em seis estágios. O primeiro (fase de descanso) pode durar de semanas a meses. No segundo estágio, há proliferação intensiva a partir do estrato germinativo, quando se formam 10 a 12 camadas de células. Seguem-se diferenciação e queratinização das novas camadas de células e o desenvolvimento de uma terceira camada, o estrato intermediário, entre as camadas interna e externa. Isso causa diferenciação na cor das células e caracteriza os estágios três e quatro. A cor da pele clareia durante o estágio cinco, quando o estrato intermediário degenera e a parte interna da nova epiderme se separa da externa (SMITH e BARKER, 1988). A separação das duas epidermes ocorre por indução enzimática da lise das ligações desmossomais da camada interna com a externa e difusão de linfa entre os espaços, que juntamente com os movimentos feitos pela própria serpente, ajudam a pele a ser trocada a deslizar fora do corpo (MADER, 2006). A separação total da pele externa ocorre quatro a sete dias após o quinto estágio e completa-se o 6º estágio (SMITH e BARKER, 1988).

Problemas relacionados com ecdise não são uma doença em si, mas um sinal clínico. Os maiores problemas relacionados à ecdise em cativeiro são por problemas de umidade, temperatura, idade e excesso de cuidados de proprietários super zelosos. Refrigeração e excesso de frio por períodos relativamente longos são relacionados com baixo metabolismo. Répteis em temperatura abaixo do normal não comem e, por isso,

não crescem por causa da falta de nutrientes e, conseqüentemente, ocorrem problemas na ecdise (MADER, 2006).

Baixa umidade relativa do ar implica em esgotamento dos fluidos que lubrificam a pele e auxiliam a troca. Ecdises com intervalo de tempo curto demais (10-14 dias) estão relacionadas com hipertireoidismo. Embora haja vários princípios ativos que podem associar-se a água para tratamento da disecdise, o melhor ainda é a água morna *per se* (ao redor de 30 graus), utilizando banhos de imersão de 20 minutos (MADER, 2006).

2.2 Cicatrização Cutânea

A revisão que aqui se aplica, é baseada na literatura referente a mamíferos. Embora se acredite que as fases e eventos da cicatrização não variem grandemente, devemos guardar as devidas diferenças que ainda devem ser estudadas².

A função básica da pele é o de atuar como barreira contra agentes nocivos (SINGER e CLARK, 1999).

Uma ferida é definida como a interrupção da continuidade da superfície externa do corpo ou interna do organismo (WHITE, 1999; SINGER e CLARK, 1999). Qualquer dano aos tecidos seja de natureza mecânica, química ou por agentes infecciosos, causa uma reação inflamatória imediata que desencadeia todo o processo de cicatrização (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970).

Os processos cicatriciais são divididos de forma didática em fases que se sobrepõem durante todo o processo: hemostasia, inflamatória, proliferativa, maturação e remodelamento (GREGORY, 1999; SINGER e CLARK, 1999).

Existem diferentes tipos de feridas que são classificadas conforme sua apresentação clínica. Feridas incisionais são aquelas causadas por um objeto cortante movido por sobre o plano paralelo da superfície cutânea. Caracterizam-se por ser limpas, de bordos regulares, cuja lacuna abre-se como resultado da elasticidade da pele. Sua severidade varia conforme a penetração do corte. O mecanismo de contaminação da ferida não necessariamente é devido à inserção de microorganismos patogênicos pelo objeto cortante em si, mas pela contaminação secundária que a abertura pode permitir. Além disso, feridas incisionais tendem a sangrar em abundância, o que de certa forma

² Nota do Autor.

dilui e expulsa mecanicamente eventuais microorganismos infectantes antes de se estabelecerem no organismo (WHITE, 1999).

Os fenômenos microscópicos que se desenvolvem durante a cicatrização são iniciados, mediados e sustentados por citocinas e fatores de crescimento (HOSGOOD, 2006). As lesões teciduais causam vazamento do conteúdo intracelular para o meio extracelular que reagem com a microcirculação, aumentando sua permeabilidade e algumas enzimas intracelulares têm a capacidade de degradar a noradrenalina, que faz a manutenção do tônus dos microvasos. Ambos causam vasodilatação e consequente extravasamento do plasma, resultando nos principais sinais clínicos da inflamação: rubor, edema, calor. A dor provavelmente é causada pela pressão do edema sobre as terminações locais, embora possa também ter origem em substâncias extravasadas que reagem quimicamente sobre estas (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970).

O leito da ferida é primeiramente coberto com sangue extravasado e debris celulares (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970; HOSGOOD, 2006; SINGER e CLARK, 1999). Entre 12 a 24 horas é invadido por leucócitos, em sua maioria polimorfonucleares, que fagocitam microorganismos e tempos depois são seguidos por macrófagos e linfócitos que limpam o local de restos de células e microorganismos (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970; HOSGOOD, 2006).

A hemorragia ocorre em diferentes graus nas diferentes feridas e pode necessitar ser controlada pelo profissional da saúde (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970). Além de todo o processo supracitado, ocorre também a exposição do colágeno subendotelial pela ruptura dos vasos, expondo-os às plaquetas, resultando em agregação plaquetária e ativação da atividade intrínseca da cascata de coagulação. Tanto o contato das plaquetas com o colágeno, como a presença de trombina, fibronectina e outros fragmentos, resultam em secreção de citocinas e fatores de crescimento pelas plaquetas e tecidos adjacentes (GREGORY, 1999). Se a hemostasia for perfeita, a porção subcutânea e dérmica da ferida será unida por um coágulo fibrinoso acelular (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970). Se não houver hemorragia, as plaquetas não são essenciais para que ocorra o processo cicatricial (SINGER e CLARK, 1999). Substâncias vasoativas fazem vasoconstrição por somente cinco a 10 minutos. Após os vasos se dilatam novamente para extravasar fluidos e permitir a passagem de células pelas paredes até o espaço extracelular (HOSGOOD, 2006).

O coágulo sanguíneo incorpora proteínas sanguíneas e outras moléculas e, então, seca, formando uma crosta que protege a ferida contra hemorragia e permite que o processo de cicatrização ocorra sob o tampão (HOSGOOD, 2006).

Momentos após a lesão ocorrer, as células mesenquimais, juntamente com certa quantidade de células epiteliais que se encontram em relativa distância do tecido atingido, começam a se diferenciar em fibroblastos que migram para a área afetada. Ao mesmo tempo existe já uma grande quantidade de fibrinogênio que, por estímulo enzimático, converte-se em fibrina, que funciona como uma barreira hemostática e uma treliça para a ação de outros elementos de reparação (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970). Mediadores produzidos por macrófagos estimulam os fibroblastos a penetrar no tecido e proliferar, expressando receptores de integrinas e migrando para a ferida. O fibroblasto encontrado na ferida é único e difere do fibroblasto de um tecido saudável, tendo caracteristicamente a aparência de miofibroblastos com abundantes filamentos contráteis, junções intercelulares apertadas, parede nuclear distorcida, quantidades variadas de actina, assim como filamentos de proteínas desmina e vimentina. A orientação e contração dos componentes da matriz extracelular pelos fibroblastos da ferida organizam os filamentos de fibrina da ferida em um tecido de conexão resistente. A maior taxa de acúmulo ocorre entre sete a 14 dias depois da injúria, estabilizando, após esse período (GREGORY, 1999).

Apesar de a formação do coágulo fibrinótico ser importante para a proteção da ferida contra intempéries, esta também pode causar retardamento da cicatrização, pois aumenta a quantidade de tecido desvitalizado que deve ser removido pelas reações celulares e inflamatórias e aumenta o espaço morto resultando em um excelente meio de crescimento bacteriano (GREGORY, 1999).

A fase inflamatória corresponde a migração de leucócitos para a ferida que ocorre aproximadamente em seis horas. Mediadores promovem a marginalização, adesão e extravasamento de neutrófilos para a ferida. A degradação de tecidos necróticos pelos neutrófilos libera proteinases que atraem mais neutrófilos. Eles fagocitam bactérias e debris celulares, removendo-os da ferida (HOSGOOD, 2006). Neutrófilos são seguidos de monócitos, linfócitos e fibroblastos, porém todas as células participantes do processo necessitam ser ativadas por substâncias liberadas no tecido lesado. Macrófagos (derivados de monócitos sanguíneos circulantes) e linfócitos fazem papéis essenciais na cicatrização, (GREGORY, 1999) enquanto que neutrófilos parecem não ser tão importantes (GREGORY, 1999; HOSGOOD, 2006), haja vista que sua

atividade antimicrobiana pode ser compensada por outras células. Contudo a cicatrização é parada quando macrófagos não são ativados, tendo um impacto direto sobre o debridamento, síntese matricial e angiogênese. A função primária dos fibroblastos é sintetizar e depositar proteoglicanos e colágeno, os principais componentes da matriz extracelular do tecido conectivo. A resposta inflamatória para cicatrização resulta numa resposta celular dentre horas e dias. A diminuição da resposta inflamatória e a supressão da atividade fibroblástica limitam profundamente a cicatrização (GREGORY, 1999).

Clinicamente podemos visualizar nesta fase um coágulo fresco, com alguma secreção serosanguinolenta até exsudato purulento, uma superfície sem quaisquer sinais de contração e nenhum tecido de granulação. Feridas em perfeita aposição pode-se observar certo grau de epitelização (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970).

A invasão de fibroblastos e o acúmulo de colágeno na ferida marcam a transição da fase inflamatória para a de reparo. Muitos processos ocorrem durante o reparo, incluindo angiogênese, fibroplastia e epitelização. Após 24 a 36 horas depois do início do processo inflamatório, fibroblastos e células endoteliais adjacentes aos bordos da ferida começam a dividir-se. Neutrófilos começam a fazer apoptose e são ingeridos pelos macrófagos. Os capilares dos bordos das feridas são estimulados a se diferenciarem, produzindo novos capilares que irão invadir e nutrir a superfície da ferida, dando a ferida uma aparência rosada. Crescendo entre os fibroblastos imaturos, os capilares são circundados por tropocolágenos, que se condensam para formar uma treliça de fibras colágenas. Ao mesmo tempo mais fibroblastos penetram no leito da ferida, primeiramente nos bordos, e as fibras colágenas são distribuídas. Juntamente com substâncias mucopolissacarídeas e glicoproteínas que são secretadas no leito da ferida, o conjunto todo forma o que chamamos de tecido de granulação (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970).

O tecido de granulação é uma mistura de ramificação de laços de neovasos circundados por células mesenquimais, fibroblastos, tecido conectivo fibroso e matriz extracelular. Este tecido é altamente resistente a infecção por causa das zonas de granulócitos e macrófagos em sua superfície externa (GREGORY, 1999; HOSGOOD, 2006). A estrutura geral desta barreira aparenta funcionar como um apoio para os fibroblastos migrarem (GREGORY, 1999) e oferece uma superfície para epitelização. Este tecido possui ainda miofibroblastos que são importantes na contração da ferida

(HOSGOOD, 2006). Presença de hematomas, tecido necrosado e bactérias bloqueiam formação deste tecido (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970).

A angiogênese é um processo complexo, estimulado por mediadores químicos que estimulam a migração e proliferação das células endoteliais, sendo o mais efetivo dos fatores quimiotáticos para as células endoteliais produzidos por macrófagos. Baixa tensão de oxigênio e aumento no nível de ácido láctico local também cumprem essa função. Um tecido de granulação recente apresenta um leito capilar rico com uma forte coloração avermelhada, porém com o tempo os novos vasos sanguíneos desintegram por causa da apoptose e a cor começa a empalidecer (HOSGOOD, 2006).

Macroscopicamente a aparência dessa ferida nesta fase é marcada pelo tecido de granulação que tem aparência levemente granulosa e de coloração vermelha “carnosa”, podendo variar para mais nodular e mais pálido, dependendo do conteúdo vascular e de colágeno. A ferida deve ter tecido de granulação em três a cinco dias e mostra contração visível em cinco a nove dias (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970).

A contração da ferida é a redução do defeito ou parte dele pelo movimento do tecido normal circundante em direção ao centro do defeito (GREGORY, 1999; PEACOCK e VAN WINKLE, 1970). Em feridas não incisionais a ferida contrai e toma forma estrelada. A contração cessa totalmente por *feedback* negativo quando as bordas das feridas se tocam (HOSGOOD, 2006).

Em animais mamíferos a contração é um dos principais eventos que fazem com que a ferida cicatrize, diferentemente dos humanos onde a contração é apenas parte do evento. Isso se deve à conformação diferente dos tecidos subcutâneos. Os animais têm o tecido subcutâneo relativamente frouxo e móvel por sobre o corpo, possuindo uma camada de musculatura cutânea chamada *panniculus carnosus*, que juntamente com a relativa falta de aderência deste aos tecidos subjacentes, permite que a contração da ferida ocorra sem interferência dos tecidos adjacentes como forças contrárias ao movimento centrípeto (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970).

Superfícies epiteliais fornecem uma importante barreira contra contaminação externa e perda de líquido. Em feridas lineares ou superficiais a regeneração epitelial recobre a ferida antes que o tecido de conexão se forme (GREGORY, 1999). Entre 24 e 48 horas depois da ferida ser feita, a porção invertida da epiderme se espessa e as células basais marginais se mobilizam, pois não estão mais firmemente aderidas à camada inferior a derme. Essas células se intumescem e se achatam ocupando maior espaço físico e conseqüentemente se estendem sobre a pele incisada. Células não

aderidas a nenhuma outra irão se mover ao acaso se o substrato onde se encontram não direcioná-las a um local. Se esta tocar outra célula da mesma natureza ela imediatamente para, o chamado contato por inibição. A orientação do substrato da ferida feita pelo colágeno irá direcionar o movimento das células em migração. Células de diferentes tipos não se inibem por contato, por isso as células epiteliais podem mover-se por entre os fibroblastos e vice-versa (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970).

Nos animais quando uma ferida é feita, ela tende a abrir-se mais em torno de 10 a 15% de seu tamanho original. Depois de cinco a nove dias, a contração começa. Ao mesmo tempo as células epiteliais nas margens da ferida se desprendem de seu substrato e começam a migrar para o centro da ferida, substituindo a crosta. Este processo ajuda a proteger ainda mais a ferida para que ocorra a recuperação da pele sob esta camada (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970).

A fase de maturação e remodelamento ocorre 15 dias após o início dos eventos cicatriciais e continua por muitos meses dependendo do tecido envolvido. Após o tecido de granulação preencher o defeito, existe uma diminuição gradual na síntese de fibroblastos, regressão da rede de capilares e um declínio na taxa de síntese de colágeno. Após 14 dias da lesão os fibroblastos da ferida param de produzir colágeno e o tecido se torna rico em fibroblastos e relativamente acelular, enquanto as células fazem apoptose (HOSGOOD, 2006). Geralmente as fibras colágenas remanescentes na cicatriz são orientadas em linhas de tensão, de qualquer forma a cicatriz raramente é mais forte que o tecido que substituiu. Após três meses a força da cicatriz formada é de 80% comparada ao tecido saudável, mas após esse tempo não há aumento na resistência desta. A força e reparo da restauração do tecido dependem quase que inteiramente do período de fibroplastia. Do ponto de vista clínico este é o período mais importante da cicatrização, pois a taxa, qualidade e volume total de deposição de matriz determinam o quão forte será a cicatriz (GREGORY, 1999).

Em feridas que abrange toda a derme, a epitelização somente ocorre após a formação do tecido de granulação. Essas mesmas feridas se forem suturadas em perfeita aposição, podem ser repitelizadas em 24 a 48 horas após a sutura. As células epiteliais sofrem algumas alterações em seu fenótipo, estimuladas por diversas substâncias liberadas local e sistemicamente e conforme elas vão repitelizando o local, as células subjacentes vão constantemente formando a lâmina basal. Em geral melanócitos sofrem mitose e migram por entre o epitélio, povoando e produzindo novamente cor no local progressivamente em até duas semanas (HOSGOOD, 2006).

A reparação epidermal envolve a mobilização, migração, proliferação e diferenciação do epitélio celular (GREGORY, 1999). Em feridas incisionais as células começam a migrar por sobre o tecido incisado e movem-se abaixo e por dentro o defeito. De 24 a 48 horas após o trauma as células basais perto da ferida começam a aumentar a taxa mitótica e após a migração epitelial cobrindo o espaço incisionado, as células migrantes tornam-se mais colunares e mantém a taxa mitótica aumentada. As células-filhas migram para cima do vértice do V feito pelo cirurgião. Simultaneamente as bordas da ferida mostram hiperplasia. Alguns “ganchos” do epitélio hiperplásico invadem os tecidos sub-epiteliais por volta da porção da superfície da incisão. Ao mesmo tempo, células que cobriram a lesão começam a queratinizar. A partir do décimo ao décimo quinto dia os ganchos de epitélio regridem (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970).

Após a membrana basal estar estabilizada, as células epiteliais proliferam para retomar a arquitetura colunar normal do epitélio estratificado. A camada mais externa das células se queratiniza. Os ganchos regridem no 36º dia seguido da cicatrização deixando a borda basal da epiderme regenerada relativamente regular. Uma vez estabilizada a nova epiderme, a taxa de mitose rapidamente declina e a espessura epidermal diminui. A epiderme sobre a ferida frequentemente possui células mais espessas que a epiderme circundante. Isto perdura por pelo menos um ano (GREGORY, 1999).

Existem fatores locais e sistêmicos que podem afetar a cicatrização de uma ferida qualquer. Os fatores locais abrangem a técnica cirúrgica e experiência do cirurgião, a qualidade do suplemento vascular da área, a presença de infecção secundária, o estresse mecânico sobre a ferida, o material de sutura e radiação. Fatores sistêmicos englobam hipoproteinemia, hipovolemia, edemas, deficiência nutricional, administração de corticóides, *diabetes mellitus*, administração de drogas citotóxicas, icterícia e idade avançada (GREGORY, 1999).

A técnica cirúrgica adequada evita problemas cicatriciais, portanto devemos minimizar o trauma manuseando o tecido gentilmente e diminuindo o máximo possível o tempo de procedimento, além de debridar e remover corpos estranhos para minimizar contaminação e reduzir possibilidade de infecção. A hemostasia meticulosa previne hematoma e seroma, enquanto se mantém o suplemento sanguíneo de forma adequada, ao mesmo tempo em que devemos evitar o uso excessivo de ligaduras e cauterização para evitar necrose tecidual (GREGORY, 1999).

Suturas muito apertada podem causar tamponamento da drenagem linfática e estase vascular, que causam uma considerável hipóxia nos tecidos. O metabolismo anaeróbico para produção de energia causa excessiva produção de ácido láctico que diminui o pH local. Os granulócitos são bastante sensíveis à queda do pH, o que causa a lise destes liberando no local enzimas proteolíticas, incluindo a colagenase, que solubiliza os tecidos de conexão, causando uma severa inflamação destrutiva (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970).

Qualquer material estranho que não consiga ser eliminado do organismo, mesmo sendo um material de sutura pode formar um granuloma. Certos materiais de sutura, como o algodão e, ocasionalmente, o catagute são responsáveis por causarem este tipo de reação no local. Granulomas são um tipo de processo inflamatório crônico, formado vagarosamente. Os macrófagos ingerem as partículas e, não podendo eliminá-las do corpo, mantêm estes ingurgitados no seu citoplasma, não saindo do local da ingestão. Como os macrófagos não se perpetuam, assim que ele pára seu metabolismo e lisa a parede, liberando o corpo estranho, outro macrófago ingere o material extravasado. Esse processo se continua, perpetuando a presença destas células no local. A presença de macrófagos e monócitos nos locais parece atrair fibroblastos ativos dos tecidos mesenquimais vizinhos, que encarceram as células e dão uma característica esférica ao conjunto, formando os típicos granulomas (PEACOCK e VAN WINKLE, 1970).

2.3 Materiais de Síntese

Fios são usados para manter os bordos da ferida provocada pelo cirurgião em contato, minimizando o tempo de cicatrização e contaminação do leito cirúrgico. Em relação à resposta do organismo ao contato com esses materiais eles são assim divididos em resposta mínima (uma pequena camada de tecido fibroso se forma ao redor do material), resposta induzida quimicamente (onde ocorre uma resposta inflamatória aguda discreta ou crônica), resposta induzida fisicamente (uma resposta inflamatória ao material ou movimento do implante em conjunto com a forma e aspereza da superfície) e necrose (BOOTHE, 2007).

Fios são classificados como inabsorvíveis, quando mantêm a força tênsil por mais de 60 dias, e absorvíveis, quando o organismo degrada o material e este perde força tênsil em menos de 60 dias (BOOTHE, 2007).

O náilon é um fio derivado da hexametilenodiamina e ácido adípico, monofilamentar, inerte ao organismo, não capilar e intermediário com relação a sua força tênsil. Tem grande aplicação nas suturas, podendo ser usado em tecidos contaminados e é o principal fio usado na sutura de pele. Algumas desvantagens do náilon seriam sua dificuldade de manipulação pelo cirurgião (pela sua memória) e relata-se que a segurança do nó é menor, sendo recomendado quatro a cinco laçadas (BOOTHE, 2007).

O ácido poliglicólico é um fio absorvível sintético que é degradado por hidrólise não enzimática de ligações éster, ocorrendo independentemente de inflamação. Dependendo do tamanho do fio, pode ocorrer fagocitose do material. Comercializado de forma multifilamentar é extraído do ácido glicólico e disponível com ou sem revestimento. Perde 35% de sua força tênsil em 14 dias e 65% em 21 dias, quando em tecidos sem alterações fisiológicas. Devido a ser multifilamentar a porosidade deste fio faz com que ele traga algum resquício de tecido ao passá-lo pelo tecido, fazendo com que o cirurgião deva dar várias laçadas para fechar o nó, cuja segurança é moderada (BOOTHE, 2007).

Octil-2-cianoacrilato é um material de síntese em forma líquida que se polimeriza na presença de umidade. Eram considerados absorvíveis, pois o processamento histológico os remove dos cortes em parafina, porém ele é inabsorvível e impede a adesão tecido-tecido por formar uma barreira sólida. Embora eles sejam biocompatíveis, eles podem permanecer na derme e causar granulomas. A degradação do cianoacrilato forma formaldeído e cianoacetato alquílico, ambos tóxicos para os tecidos (BOOTHE, 2007).

Segundo o fabricante Johnson&Johnson® a cola deve ser aplicada na derme exclusivamente de modo a não manter contato direto com os bordos da ferida, por isso é recomendado o uso da cola como adjuvante na sutura final, e não como um único método de síntese.

3 OBJETIVO GERAL

▶ Avaliar a qualidade cicatricial cutânea das serpentes *Bothropoides jararaca* mediante padrões de eversão e aposição e materiais de suturas diferentes.

3.1 Objetivos específicos

▶ Avaliar clínica e histologicamente a cicatrização cutânea, utilizando o padrão aposicional de sutura, comparando-o com o modelo de eversão padronizado para essa espécie animal.

▶ Entender o processo cicatricial envolvendo os materiais de síntese utilizados (mononáilon, ácido poliglicólico e octil-2-cianoacrilato) determinando qual aquele que apresenta menor reação tissular.

▶ Buscar entre os padrões e materiais de sutura qual (is) apresentam melhores características para a síntese cutânea de serpentes *Bothropoides jararaca*.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Dezesseis serpentes *Bothropoides jararaca* originadas do Núcleo de Ofiologia de Porto Alegre – Fundação Zoobotânica do Brasil, de tamanho variando entre 80 a 100 cm e peso entre 125 a 275 gramas foram utilizadas para o experimento, após os devidos ajustes objetivando a melhoria da ambientação e manejo geral na situação deste experimento.

O número estimado para amostragem foi definido levando-se em conta o máximo de animais possíveis de se obter via criatório científico, ajudar a preservar a segurança da equipe e a ética e bem-estar dos animais, minimizando o número de animais a serem submetidos à experimentação. O presente experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética ao Uso de Animais – UFRGS sob número 19908.

4.2 Manejo Geral

Trata-se de um projeto pioneiro com o uso de serpentes em experimentos cirúrgicos dentro do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Após a conclusão da obra do recinto propriamente dito, foram ambientadas três serpentes antes dos procedimentos definitivos para ajustar e adequar todas as normativas e melhorar as diretrizes de ambientação para os animais-modelo.

4.2.1 Recinto

Localizado em sala anexa ao Bloco Cirúrgico de Ensino e Pesquisa da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, o recinto foi criado em uma extremidade desta sala com dimensões de 2,60 metros de largura, 1,20 de altura e 1,20 de profundidade. As paredes laterais, traseira e o piso eram a continuação da própria sala, enquanto que a parte frontal e superior eram feitas por grades de ferro galvanizado do tipo otis. A grade, com vão de 1 cm, era afastada do chão 1 cm, para escoamento da água da limpeza e a parte superior tinha uma porção móvel de 63 por 63

cm para permitir o acesso ao interior, que era fechado com cadeado para segurança geral. Este recinto é mostrado na figura 2.

Figura 2 Recinto propriamente dito. Seta verde indica vão móvel que permitia a entrada e saída de dentro do local. Detalhe mostra grade do tipo Otis, 1 cm acima do chão



Pisos de hospitais veterinários são feitos de material que não isola termicamente (piso frio). Uma primeira camada de jornais ou papelão foi colocada para maximizar o isolamento do chão e facilitar a limpeza e, então, casca de pinus, usada em jardins.

A casca de pinus era espalhada simplesmente pelo chão até cobrir todo o piso. Por cima dela era posto todo o material que enriquecia o ambiente. Em uma extremidade foi posta a campânula para criar apenas um local com função de fornecer calor. Então na região centralizada do recinto duas telhas foram colocadas com o objetivo de fornecer mais um local para esconderijo. Ainda foram postos dois galhos de grosso calibre para que elas pudessem se enrolar. Na extremidade oposta à campânula era afogada uma porção de feno que simulava um arbusto, tendo a mesma função das telhas. Ainda sobrava uma área grande nua, somente com casca de pinus para circulação livre e onde ficava o recipiente com água, como mostra a figura 3.

Figura 3 À esquerda a lâmpada de aquecimento, ao centro o recipiente de água, galhos e pedras e à direita, feno e alguns canos.



4.2.2 Temperatura

Os animais foram mantidos a 27°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa do ar de 60% ($\pm 10\%$) medidas com termômetro digital, coletando-as diariamente. A temperatura foi mantida por um ar-condicionado e a umidade relativa do ar foi controlada com baldes de boca larga com água, colocados dentro da sala onde o recinto estava, mas fora deste. Uma campânula do mesmo tipo usado em suinocultura foi colocada com lâmpada de 200 Watts. O termômetro utilizado possui dois medidores, interno e externo (in e out) e a parte externa do termômetro foi posicionada logo abaixo para controlar a temperatura de aquecimento. A média da temperatura abaixo da campânula foi de 36°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$).

4.2.3 Ambientação

Os animais foram ambientados por período de duas semanas antes dos procedimentos.

4.2.4 Identificação individual

No tocante ao pré-experimento, não houve necessidade de identificar cada serpente por meios mais complexos, pois havia diferenciação em relação à cor e tamanho – sendo apenas três animais. Todas as serpentes foram acomodadas juntas em um recinto, pois não há agressividade entre elas, especialmente em um ambiente enriquecido.

Durante o experimento propriamente dito, foram utilizados microchips para identificação e a colocação deste foi padronizada no lado esquerdo, na linha entre as escamas dorsais e ventrais a cerca de 2 a 3 cm craniais à cloaca, como mostra a figura 4. A espessa agulha foi introduzida sob anestesia local, usando-se 0,3 mL de lidocaína 2% (em seringa de 1mL/cc), aguardando 2 min para início da ação. A assepsia para esse procedimento foi feita com algodão embebido em clorexidina a 0,12%. A microchipagem foi feita no momento da coleta dos animais no Núcleo de Ofiologia de Porto Alegre e o número de microchipe era imediatamente anotado e ligado ao número recebido no local de origem.

Figura 4 Seta verde aponta posição do microchipe, seta amarela a abertura cloacal e seta branca o pequeno relevo causado pelo implante.



Ecdises ocorrem de maneira aleatória em um grupo e sua frequência varia principalmente pela umidade relativa do ar, existindo alguma variação entre as espécies e variação individual. Diretamente sobre o rolo de um micropore de boa qualidade foi escrito o número do microchipe com lápis macio 4B, tomando-se o cuidado para que a inscrição ficasse forte e este fragmento foi recortado e colado na face dorso-lateral do corpo, preferencialmente perto da cabeça.

4.2.5 Alimentação

Ratos foram adquiridos de laboratórios de experimentação animal e criatórios próprios. Embora exista a indicação de que a presa não deve ser maior que 2% do peso corporal da serpente, existem dados ainda não publicados que demonstram que é possível o oferecimento de um volume maior de presa sem transtorno. Durante o experimento padronizou-se que a seleção do camundongo a ser oferecido era relacionada primeiramente de maneira empírica pelo volume do rato comparado com o da serpente (pouco maior que o diâmetro da região onde se localiza o estômago), sendo então pesado com balança semi-analítica e anotado. Contava-se então o tempo. A serpente deveria picá-lo num período de 15 minutos e contar-se-ia mais 15 minutos para ela ingerir ou começar a ingerir a presa. Se a serpente não o ingerisse, ela voltava ao recinto e a presa era resgatada. Ao contrário se ela ingerisse, esperava-se 10 minutos e oferecia-se um segundo rato, dentro da mesma faixa de peso ou um pouco menor. Não eram oferecidos mais que dois ratos. O intervalo de oferecimento foi em média duas semanas. O manejo propriamente dito da alimentação foi feito de maneira individualizada e assistida.

O manejo geral posterior à alimentação foi delicado para evitar regurgitação por estresse. A água era trocada a cada três dias, ou quando necessário, e foi oferecido *ad libitum* em um recipiente raso de vidro com capacidade de 3 litros.

4.2.6 Materiais de Manejo Geral

Ganchos de manipulação são utilizados para guiar, pegar, erguer e manipular serpentes venenosas com segurança. Neste estudo foi utilizado um gancho de 80 centímetros de comprimento, suficiente para *B. jararaca*. O gancho foi confeccionado em alumínio como mostra a figura 5, pesando 175 gramas, sendo que a haste que entra

em contato com a serpente tem um “desgaste” feito de tal forma que, ao segurar o gancho em ângulo, a parte desgastada fica em paralelo ao chão, facilitando o trabalho e evitando lesões.

Figura 5 Gancho descrito para manipulação das serpentes.



Tubos transparentes foram usados para contenção mais precisa: administração de fármacos, inspeção da pele, palpação, etc. O diâmetro do tubo permitia que a cabeça passasse facilmente, sem permitir que o animal retorne, dobrando-se sobre seu corpo, como mostra a figura 6.

Figura 6 Contenção de serpente venenosa.



Para transporte e armazenamento dos animais para as salas de cirurgia, ou para algum outro tipo de manejo fora do recinto, containers plásticos com fechos laterais foram utilizados para transportar e armazenar o animal por curto período (figura 7).

Figura 7 O transporte por curto período foi feito com o uso de containers plásticos e sua tampa era usada como proteção contra botes.



4.2.7 Limpeza e Desinfecção

Limpeza foi necessária em intervalos variados. Todo o material que foi introduzido no recinto foi autoclavado a 120°C por 30 minutos. O substrato era trocado inteiramente e os “móveis” do recinto (canos, pedras e telhas) eram simplesmente lavados com escova e sabão neutro e recolocados. Na troca de substrato todos os jornais, todo o feno e lascas de casca de pinus com fezes eram dispensados. O restante era checado quanto a presença de matéria orgânica e, então, autoclavado, pronto para ser usado novamente no meio. O chão era lavado com desinfetante à base de amônia quaternária e esperava-ser a secagem até colocar-se novamente o substrato.

4.2.8 Tratamentos Prévios

Os animais usados no experimento não receberam atendimento veterinário de rotina, por isso um tratamento de triagem durante a ambientação foi instituído em todos os animais para assegurar a higidez das serpentes. Metronidazole 20 mg.kg⁻¹, SID, por sete dias, via oral, foi o tratamento inicial para evitar que possíveis infecções subclínicas se manifestassem no decorrer do estudo na fase de estresse por troca de cativeiro e anestesia. Apesar dos animais receberem ivermectina como antiparasitário no serpentário de origem, foi feita medicação novamente com Febendazole 25 mg.kg⁻¹, via cloacal, a cada sete dias por um mês. Uma vez ao mês os animais foram pesados com balança eletrônica de escala 1 grama.

4.3 Cirurgias

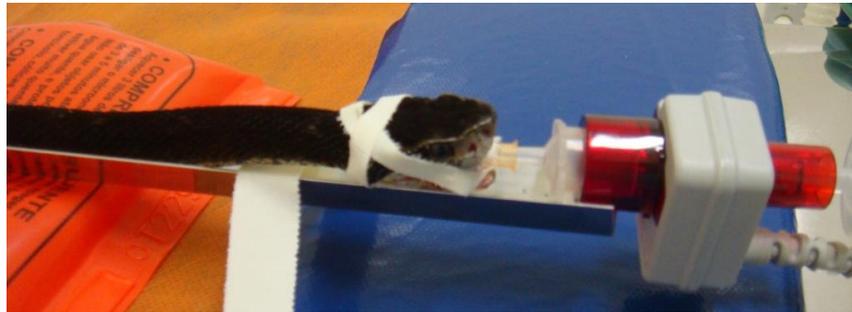
Os animais eram levados do recinto até o bloco cirúrgico dentro de uma caixa plástica. No bloco cirúrgico havia uma sala climatizada a temperatura média de 32°C, onde eram mantidas neste local até o momento da cirurgia. Nesta sala ficava também todo o material de contenção, identificação e as fichas individuais. Deste modo o animal foi identificado, o peso foi checado, a contenção física foi feita e então foi aplicada as medicações pré-anestésicas: morfina 3mg.kg⁻¹ e cetamina 3mg.kg⁻¹ via intramuscular. Na parte oposta ao tubo era colocada uma bucha de gaze embebida em isoflurano para indução anestésica. Assim que houvesse o relaxamento total, a intubação foi feita utilizando cateter 16G recoberto com lidocaína gel a 2%, representado na figura 8.

Figura 8 Imagem mostrando a intubação traqueal.



Este cateter era adaptado ao baraka do aparelho de anestesia, como é mostrado na figura 9. Nas biópsias o procedimento era repetido da mesma forma.

Figura 9 Adaptação do cateter usado como tubo traqueal ao aparelho de anestesia.



Um trilho de alumínio em “V”, foi utilizado como calha cirúrgica apoiado a duas peças de madeira recortada para acomodá-la firmemente, mantendo-a estável e a uma altura da mesa de cerca de 4 cm, como mostra a figura 10. Este pequeno espaço foi utilizado para colocar bolsas com água aquecida para manutenção da temperatura corporal.

Figura 10 Serpente acomodada em trilho de alumínio com bolsas aquecidas abaixo dela para fornecimento de calor e ligada ao aparelho de anestesia.



O animal era colocado primeiramente em decúbito lateral direito e feito a antisepsia cirúrgica com clorexidina 0,12% aquecido, o campo cirúrgico plástico foi posicionado adequadamente e as incisões foram feitas. Foi padronizado fazer primeiramente as incisões do lado esquerdo, seguindo a direção crânio-caudal. Após o animal era posicionado em decúbito lateral esquerdo e as incisões eram realizadas do lado direito, conforme o padrão estabelecido. Uma incisão de cinco cm era feita. As incisões foram realizadas duas linhas de escamas acima do acesso universal, assim sendo mantinha-se uma linha de escamas para ancorar o fio da sutura da biópsia, como

apresentado na figura 11. Ao total foram feitas cinco incisões e a posição das mesmas ao longo da serpente eram diferentes em cada indivíduo e foram sorteadas ao acaso.

Figura 11 Incisão duas linhas de escama dorsalmente ao acesso universal.



O padrão das suturas utilizado para comparação era padrão isolado simples (aposição) e padrão Wolff (eversão); e três tipos de materiais de síntese: mononáilon, ácido poliglicólico e octil-2-cianoacrilato. Sendo assim as suturas ficaram em cinco combinações: aposição-náilon, aposição-ácido poliglicólico, eversão-náilon, eversão-ácido poliglicólico, aposição-octil-2-cianoacrilato. Os locais de cada tipo de síntese eram trocados de maneira aleatória, variando em cada animal e nunca eram feitas mais que três incisões de cada lado. O mapa das incisões foi previamente desenhado para que não houvesse repetições nos locais e posições das suturas. Um gabarito era pintado previamente para cada serpente, bastando, no momento da indução, identificar o animal e acompanhar no gabarito, conforme exemplo na figura 12. As serpentes foram tratadas sempre pelos seis últimos números do microchipe.

Usando-se os fios de sutura, englobou-se uma escama imediatamente dorsal e outra imediatamente ventral (Figura 13) para sustentar bem o nó e prevenir deiscências. O primeiro nó duplo era apertado até haver a junção das bordas de forma adequada para cada padrão de sutura e mais três nós simples eram feitos, tracionando-se mais o último. O diâmetro do fio utilizado em ambos os materiais foi 3-0.

Figura 12 Exemplo de dois gabaritos usados como guia durante a cirurgia, onde preto representa mononáilon, azul representa ácido poliglicólico e rosa representa octil-2-cianoacrilato. As letras A significa sutura de aposição e E, eversão.

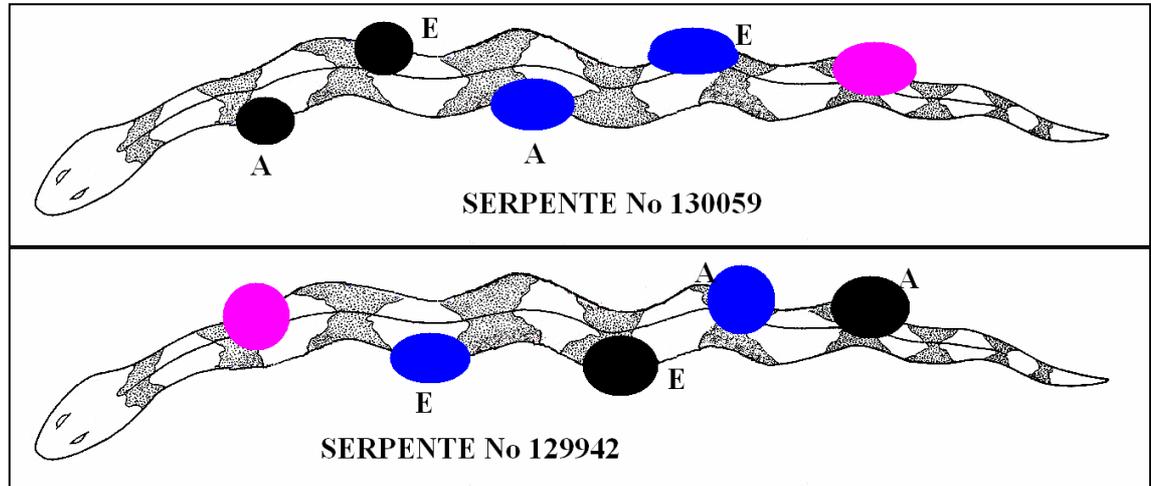
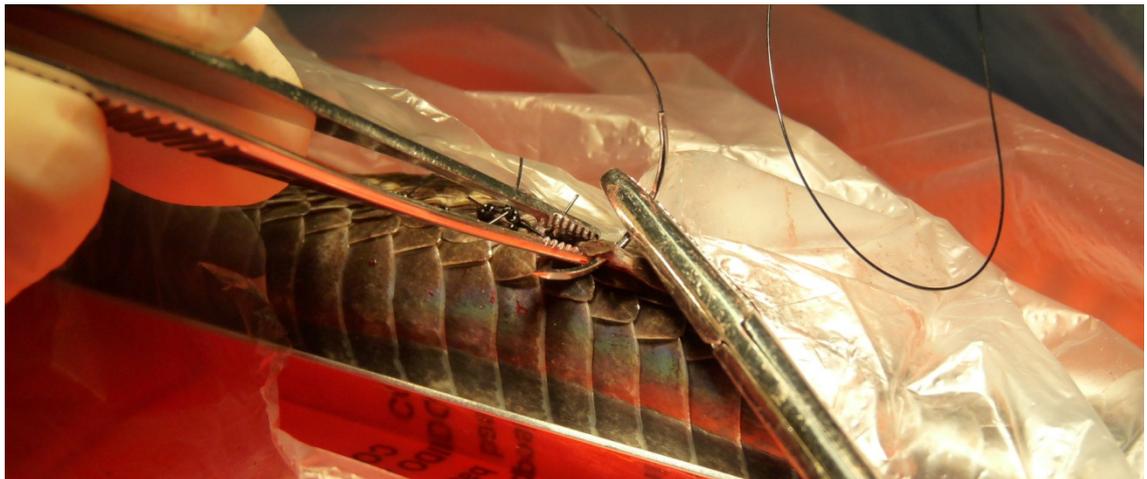


Figura 13 Passagem da agulha dorsalmente a escama dorsal ao corte cirúrgico, abordando-a de modo a servir de ancoragem juntamente com a escama ventral ao corte.



No uso da cola octil-2-cianoacrilato eram tomados alguns cuidados. A cola era retirada da embalagem de maneira estéril e posta em uma seringa de 1 mL/cc. A pele era apositada utilizando os dedos polegar e indicador e assim estilava-se a cola gota a gota por toda a incisão (Figura 14), mantendo no lugar com os dedos por dois minutos, tempo para o material polimerizar. Então era aplicada uma nova camada de cola sobre a primeira, sem a necessidade de manter as bordas em aposição com os dedos. Após a polimerização da segunda camada a síntese estava pronta, sendo usada uma quantidade média de 0,15 mL de cola.

Figura 14 A incisão era posicionada com os dedos de modo a manter as bordas aproximadas e a cola era instilada gota a gota para realizar a síntese da ferida.



Ao finalizar os procedimentos, o animal era posto em uma caixa com uma fonte de calor extra: um lençol térmico com termostato.

No pós-operatório imediato a ferida cirúrgica era limpa com gaze seca, sem colocar curativo algum. Era feita antibioticoterapia com enrofloxacino 5 mg.kg^{-1} e analgesia com tramadol 3 mg.kg^{-1} via subcutânea ambos uma vez ao dia por três dias. Juntamente com o tratamento foi administrado Ringer Lactato na dose de 50 ml/kg , também via subcutânea, para evitar danos renais pela enrofloxacina.

4.4 Biópsias

As biópsias foram feitas em três e seis semanas após o procedimento cirúrgico. Tomou-se o cuidado de abordar uma escama acima e outra abaixo, sem incidir nenhuma escama durante o corte e procurou-se abranger no mínimo um ponto para a biópsia. Para um corte mais preciso utilizou-se um bisturi cabo número 3 com lâmina 15. Na primeira biópsia foi retirada parte da porção mais cranial da incisão suturada, ao contrário da segunda que foi excisionado a porção caudal. Ainda assim permaneceu mais da metade do tamanho total da incisão intacta. Seguiu-se um padrão fixo na ordem de coleta, igualmente a ordem da cirurgia. Imediatamente após a retirada da amostra, ela era acondicionada em um recipiente contendo formol 10% tamponado e era identificada numericamente. A amostra ficou por um período superior a 24 horas num recipiente que continha seguramente quantidade 20 vezes maior que o volume do material para a excelente fixação e após foi transferido para um microtubo de 2 mL para envio ao

Laboratório de Patologia da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas.

Cada amostra foi identificada com numeração de três dígitos (por exemplo 001, 002, 035, 120, etc.). Anexado ao material foi enviado uma tabela que relacionava a numeração ao conteúdo. Por exemplo: Amostra 019, serpente número 130926, Eversão, Ácido Poliglicólico, três semanas. Foram observadas duas ecdises até os animais serem devolvidos ao serpentário de origem. A inspeção da ferida cirúrgica foi feita em todos os animais até 8 semanas após a última biópsia.

4.5 Exame Histopatológico

Após a fixação, as amostras foram processadas rotineiramente e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE) e tricômio de Masson para observação em microscópio ótico de luz.

As amostras foram analisadas individualmente e a cada amostra foi atribuído um escore relativo à presença e quantidade de macrófagos, linfócitos, heterófilos e fibroblastos, além da conformação estrutural geral do tecido. Havia um escore numerado representando quantidade de células encontradas na amostra, conforme tabela 1.

Tabela 1 Escore de celularidade da amostra

Escore	Significado
0	Ausência de célula
1	Presença discreta
2	Presença moderada
3	Presença intensa

4.6 Análise Estatística

Os dados obtidos foram organizados em uma tabela e enviados ao Núcleo de Assessoria Estatística da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Utilizando o software SAS 9.2 foi realizada análise de variância unifatorial (cinco tratamentos de sutura) com medidas repetidas (dois tempos – três e seis semanas) para cada uma das variáveis.

5 RESULTADOS

5.1 Aspectos de Ambientação

5.1.1 Piso

O piso foi revestido inicialmente com folhas de jornal e acima maravalha compactada manualmente e, ainda, em pontos específicos, feno. Na situação específica deste experimento, com o desenho do recinto, não foi desejável o uso destes materiais. Foi tentado casca de coco, subproduto de empresas que beneficiam a fruta para alimentação e esta também não foi aprovada. Finalmente a casca de pinus mostrou-se ideal.

Para enriquecer o ambiente o feno foi perfeitamente adaptável. Galhos proporcionaram uma área extensa para os animais se enrolarem e se distribuírem uniformemente, fazendo com que a área útil do recinto fosse ampliada e otimizada. Os canos de PVC simulam bem tocas e esconderijos naturais, onde preferiram se esconder durante o dia, assim como sob os “arbustos” de feno.

5.1.2 Identificação

A microchipagem para identificação foi feita com sucesso, sendo prática, segura e eficaz, mas com custo inicial elevado. Tendo o número de cada animal microchipado relacionado com o número do Núcleo de Ofiologia de Porto Alegre, ficou fácil acessar o histórico do mesmo. O micropore aderido à pele da serpente para identificar posteriormente a pele desprezada no meio foi altamente eficaz, embora em poucos animais houvesse o descolamento parcial ou total do micropore. Estes ficavam aderidos na pele dispensada como mostra a figura 16, atingindo o objetivo.

Figura 15 Pele desprezada com identificação.



5.1.3 Alimentação

A alimentação foi feita de forma adequada, pois não houve regurgitos, lesões da presa ou quaisquer contratempos. As serpentes não demoraram a picar a presa e a presa morria rapidamente. Não houve qualquer preocupação quanto à espécie utilizada como alimento, haja vista que as serpentes parecem não ter preferência. Algumas serpentes começaram a engolir a presa pela porção caudal, enquanto outras pela porção cranial e a alimentação não sofreu alteração. Todas as serpentes demoraram mais de três meses para iniciar a alimentação dentro do recinto proposto. Os animais comeram uma quantidade de *Rattus norvegicus* equivalente a 8,2 a 24,2% do seu peso corporal.

5.1.4 Ambientação

O tempo de duas semanas não foi suficiente para ambientação adequada dos animais.

5.1.5 Comportamento Geral

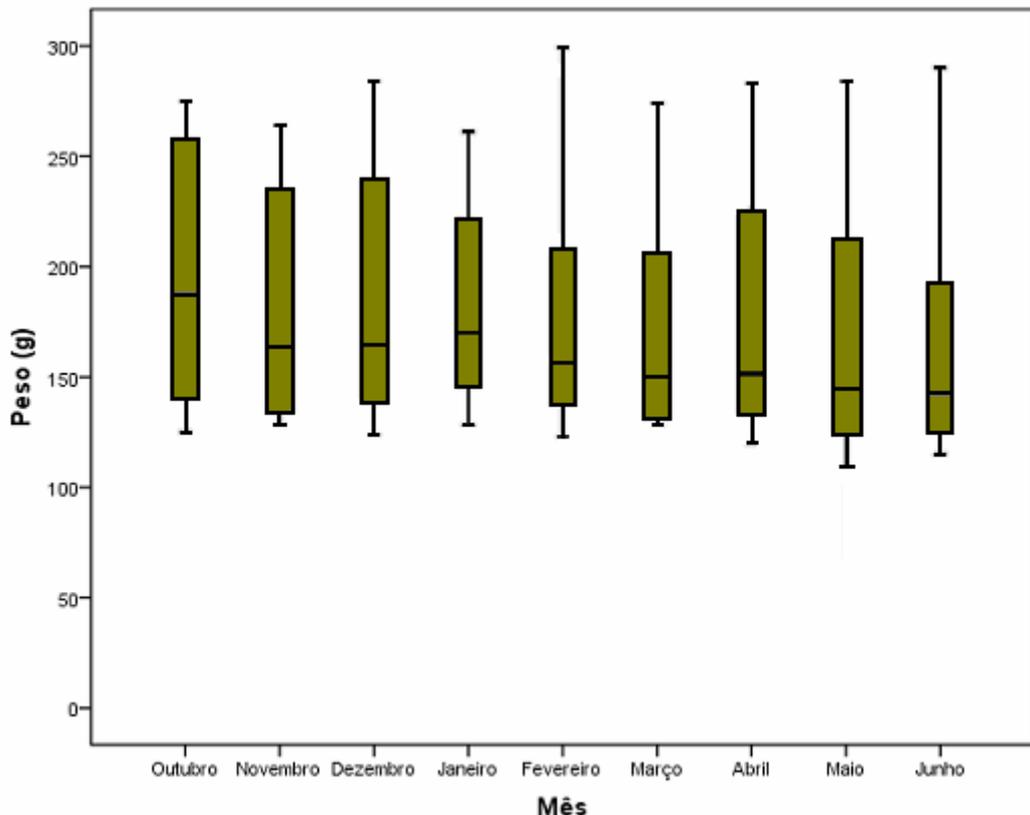
Durante algumas visitas noturnas foi observado um considerável número de indivíduos fora dos esconderijos e algumas eram flagradas explorando o ambiente. Além disso, os animais que durante o dia mantinham-se fora dos esconderijos não eram os mesmos que perambulavam na fase diurna nos dias posteriores.

As serpentes eram manejadas diariamente desde o início do experimento até o final do tratamento pós-cirúrgico da segunda biópsia. Durante o manejo inicial, os animais eram excessivamente irascíveis, proferindo diversos botes, vibrando bastante a cauda, fazendo movimentos rápidos e bruscos. Ao longo dos dias este comportamento foi diminuindo na maioria dos animais e, talvez, pode-se dizer que algumas serpentes (consideradas as mais agressivas no sul do Brasil) desenvolveram certo grau de mansidão. Ao final do tratamento pós-operatório, o manejo deixou de ser diário e passou a ser mais esporádico, voltando rapidamente à condição comportamental inicial.

5.1.6 Peso

O peso dos animais ao longo do experimento foi anotado e organizado utilizando o Software SPSS versão 18, resultando no gráfico 1. No início do experimento as serpentes tiveram queda de peso corporal, coincidindo com o período de anorexia no início do experimento, mas mesmo quando a alimentação começou a ser regular, elas continuaram a perder peso, somente começando a ganhar novamente dois meses após se alimentarem regularmente.

Gráfico 1 Relacionando a média do peso corporal em gramas das serpentes ao longo do tempo de experimentação de outubro de 2011 a abril de 2012.



5.2 Aspectos Clínicos Gerais

5.2.1 Contaminação Fúngica

Durante o período de ambientação foi observado que os animais apresentavam clinicamente infecção fúngica dérmica extensa, o que atrapalharia a cicatrização cirúrgica, interferindo nos resultados. Foi estabelecido um tratamento básico tópico utilizando xampú de cetoconazole a 2%, re-aplicado a cada 48 horas, com uma escova dentária macia, em todo o corpo do animal, fazendo-se movimentos de vai-e-vem em sentido crânio-caudal e caudo-cranial para permitir que o medicamento penetrasse melhor entre as escamas. É indicada a ação do medicamento por 10 minutos, porém foi decidido diminuir o tempo em cinco minutos para minimizar o estresse, onde elas eram mantidas em câmara úmida aquecida e então enxaguadas com água morna. Os banhos foram repetidos por três vezes com sucesso de terapia, não necessitando tratamento via oral.

5.2.2 Curativo Cirúrgico

No pós-operatório imediato, a ferida era limpa com gaze seca e confeccionaram-se curativos plásticos. Este material foi indesejável, por não absorver secreções e a ferida foi mantida sem proteção.

5.3 Aspectos clínicos das feridas cirúrgicas

Um assunto que teve de ser revisto foi a posição da passagem da agulha para ancorar o fio na pele. Alguns pesquisadores citaram antes do início do experimento que foi testado aleatoriamente sutura intradérmica em quelônios, com ótimos resultados. Este foi experimentado durante o piloto. A pele desta espécie é tão delgada e, um tanto quanto friável para a passagem da agulha paralelamente ao corte, que foi impossível realizá-la. Também foi tentada a sutura sem abordar escama alguma, o que resultou em deiscência.

Macroscopicamente a pele manteve boa aposição das bordas. Não se observou sinais de edema e contaminação secundária, com exceção de um animal que teve duas incisões com deiscência e cuja causa foi ligada à contaminação secundária.

5.3.1 Sutura Aposicional

As primeiras ecdises que ocorreram no pós-cirúrgico tenderam a ocorrer semanas após a segunda biópsia. Foi notado claramente que a pele se desprendia com facilidade nas regiões onde foi feita a sutura com padrão aposicional. Algumas vezes a pele ficava aderida no local, devido à biópsia que acabou atrapalhando a ecdise normal. A pele da região mediana da ferida apresentava-se frouxamente aderida e facilmente retirada com o auxílio de pinça. Além disso, a cicatriz ficou esteticamente aceitável. Dentro do padrão de aposição, tanto com fio mononáilon quanto com ácido poliglicólico, a incisão cicatrizou muito bem, não havendo quaisquer pontos negativos e diferença clínica entre os materiais usados, como mostram as figuras 17 e 18. A única diferença visível entre os materiais refere-se ao mononáilon, que precisou ser retirado em cerca de 70% das feridas, enquanto que o ácido poliglicólico permanecia intacto apenas na sua porção externa, bastando pequena tração para rompê-lo. Os pontos com ácido poliglicólico só não se desprenderam espontaneamente com as ecdises em razão da sutura da biópsia, como já supracitado. O padrão aposicional utilizando octil-2-cianoacrilato teve excelente resultado clínico, melhor comparado aos outros dois materiais no mesmo padrão e a cicatriz ficou com a melhor aparência estética entre os materiais utilizados, como se pode ver na figura 18. Em um dos animais que fez ecdise, a ferida ficou tão bem cicatrizada que ficou praticamente imperceptível o corte cirúrgico, isto provado na figura 19.

Figura 16 Exemplo de cicatrização utilizando ponto isolado simples e nylon. Seta indica a cicatriz da biópsia na extremidade esquerda.



Figura 17 Exemplo de cicatrização utilizando ponto isolado simples e Ácido Poliglicólico.



Figura 18 Exemplo de cicatrização utilizando octil-2-cianoacrilato.



Figura 19 Perfeição estética alcançada com o uso de octil-2-cianoacrilato.



5.3.2 Sutura de Eversão

O padrão de eversão pareceu ingurgitar a pele. Três meses do procedimento final, os pontos remanescentes, que não saíram naturalmente com as ecdises, foram retirados. Nestas suturas foi difícil retirar a pele que ficou aderida ao local e os pontos

pareciam estar profundamente inseridos na pele, não dando margem para a tesoura de pontos. Aparentemente havia secreção seca juntamente com a pele remanescente da ecdise. Foi necessária a aplicação de óleo mineral para liberar as crostas formadas. Além disso, o padrão linear da distribuição das escamas ficou desorganizado nesta linha de sutura, deixando um resultado estético duvidoso, como mostram as figuras 20 e 21. Mesmo utilizando-se um padrão de eversão na sutura da incisão, a pequena porção de pele que se projetava para fora tendia a se inverter, não ocorrendo este fenômeno no padrão de aposição.

Em todos os casos foi observada nos dois primeiros dias pós-cirúrgicos, pequena quantidade de secreção sero-sanguinolenta no local da incisão.

Figura 20 Cicatrização utilizando ponto de versão e mononáilon.



Figura 21 Cicatrização utilizando ponto de eversão e ácido poliglicólico.



Todos os resultados clínicos foram resumidos na tabela abaixo.

Tabela 2 Resumo dos achados das inspeções das feridas, onde se relaciona o tipo de síntese com o achado, resultando na porcentagem de animais que apresentaram o achado, num total de 12 animais avaliados.

	Crostas Aderidas	Exsudato	Infecção Secundária	Deiscência	Aderências de Ecdises
Aposição Mononáilon	33,34%	25%	0%	0%	41,67%
Aposição Ácido Poliglicólico	16,67%	33,34%	8,33%	8,33%	41,67%
Eversão Mononáilon	100%	33,34%	0%	0%	83,34%
Eversão Ácido Poliglicólico	75%	41,67	0%	0%	91,67%
Octil-2- cianoacrilato	16,67%	0%	8,33%	8,33%	25%

5.3.3 Ecdise

Apenas uma disecdise ocorreu sem relação com a sutura, pois neste caso somente a pele da cabeça se desprende, ficando o restante aderido. Em todos os casos, de um a cinco banhos com água morna por 20 minutos resolveram muito bem e a ecdise foi dirigida manualmente, desprendendo-se facilmente da pele adjacente.

5.4 Biópsias

As biópsias do pré-experimento foram feitas em uma, três, quatro e seis semanas após as cirurgias. As biópsias em uma semana não mostraram qualquer recrutamento celular cicatricial, somente áreas hemorrágicas. As biópsias feitas em quatro semanas continham respostas celulares praticamente iguais comparadas às de três semanas.

Durante o experimento piloto foi percebido que incisar exatamente entre as escamas dorsais e ventrais era indesejado, pois se seccionava as escamas ventrais no momento da biópsia.

5.5 Aspectos Histopatológicos

Com relação aos resultados histopatológicos das biópsias cutâneas, observou-se com três semanas de cicatrização discreto infiltrado inflamatório misto constituído de macrófagos, heterófilos e linfócitos; bem como proliferação de fibroblastos dispostos dispersamente na derme (arranjados frouxamente na derme), vide figura 22. A epiderme estava espessada e com células pouco diferenciadas. Após seis semanas observaram-se na derme, similar as primeiras biópsias, discreto infiltrado inflamatório misto constituído por macrófagos, heterófilos e linfócitos; havia proliferação de fibroblastos dispostos em feixes paralelos à epiderme, além de neovascularização (tecido de granulação). A derme mantinha-se espessada, porém as células estavam em plena diferenciação para tecido pavimentoso estratificado. Em quatro amostras havia formação de granulomas focalmente extensos ou multifocais. Os resultados dos escores obtidos resultaram em uma tabela em anexo A.

Em cinco amostras havia presença de granulomas, três delas onde foi usado ácido poliglicólico e duas com o uso do mononáilon.

Figura 22 Aparência de parte do tecido três semanas após a cirurgia. Seta amarela: macrófago; seta vermelha: heterófilo; seta verde: linfócito; seta azul: fibroblasto. Notar a disposição desorganizada do colágeno. Aumento de 400X, coloração de hematoxilina-eosina.

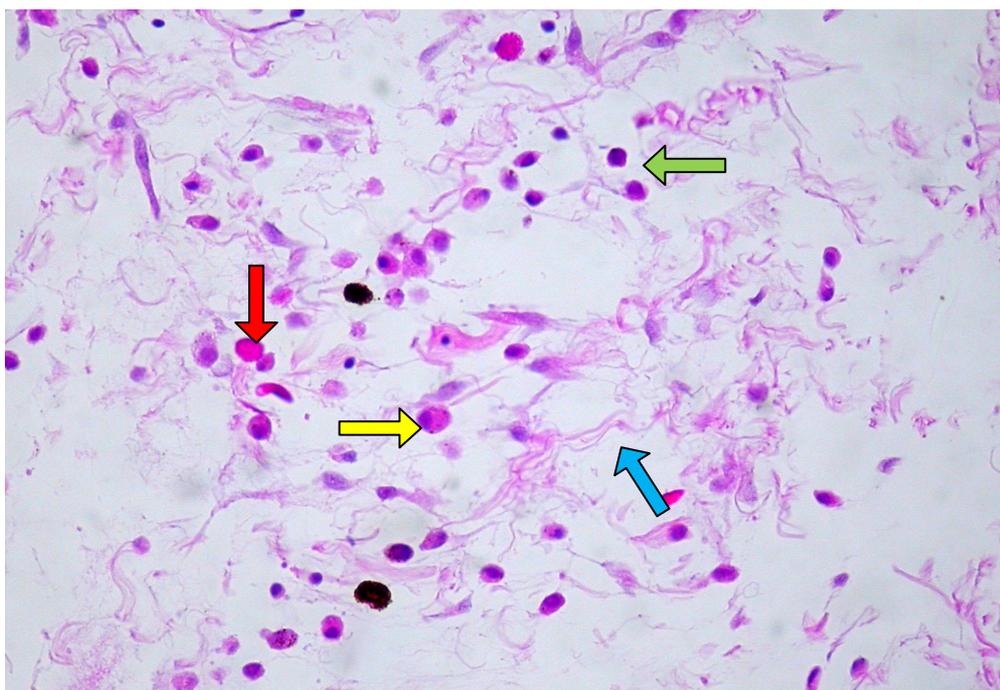


Figura 23 Em três semanas, espessamento da epiderme com células pouco diferenciadas. Aumento de 400X, coloração de hematoxilina-eosina.

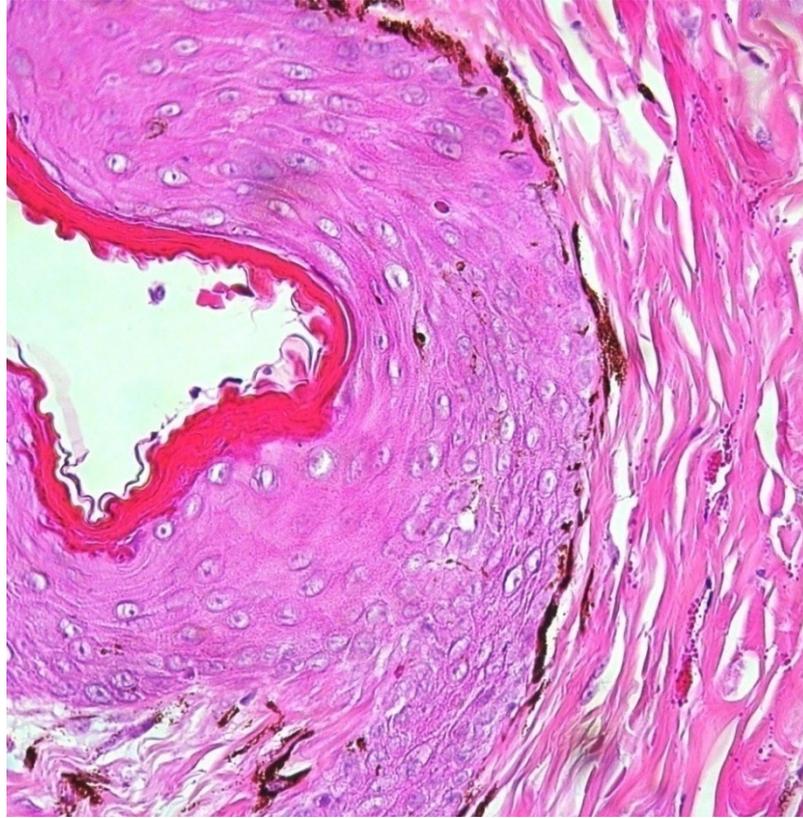
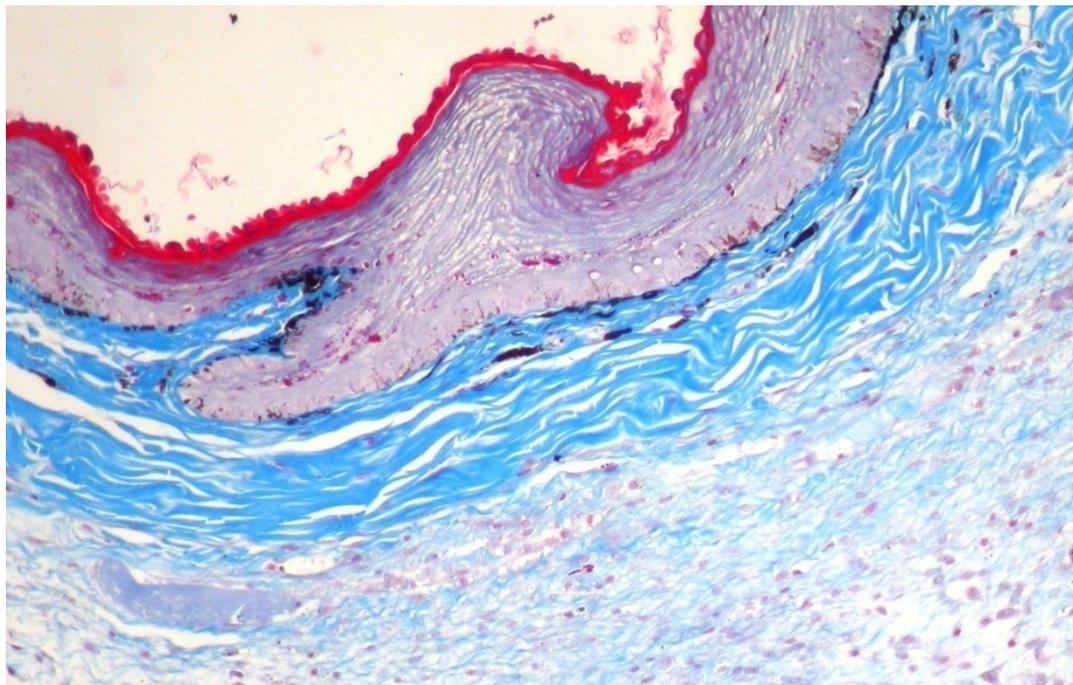


Figura 24 Em seis semanas epiderme ainda espessada, mas células mais organizadas como tecido pavimentoso estratificado e fibroblastos organizados em feixes paralelos. Aumento de 200X, coloração tricômio de massom.



5.6 Análise Estatística

Os resultados estatísticos das amostras para a variável linfócitos, assim como heterófilos, mostraram somente significância no tempo, sendo a média do número de células em três semanas significativamente maior que a média em seis semanas. As outras variantes não apresentaram estatisticamente significativa diferença.

5.7 Óbitos

No total foram nove óbitos, cinco mortes decorrentes da anestesia, destes cinco, três destes animais tiveram rompimento dos sacos aéreos. Existem dois sacos aéreos na região anterior, caudalmente a cabeça que, devido à excessiva pressão ao inflar o pulmão com isoflurano acabaram rompendo-se. Dois animais, porém, simplesmente não se recuperaram da anestesia. Quatro animais morreram de causas desconhecidas. Não foram achadas lesões durante a necropsia, nem alterações histológicas relevantes que explicassem a morte dos animais.

6 DISCUSSÃO

6.1 Aspectos de Ambientação

A manutenção da maravalha era difícil ao operador devido ao desenho do recinto e o movimento das serpentes deslocava o material, perdendo isolamento térmico. Em contato com o Instituto Butantã em São Paulo, via carta eletrônica³, foi informado que o substrato usado para as serpentes venenosas são lascas de troncos de árvore, na situação do instituto fácil de obter e utilizar. Com relação à casca de coco, esta veio infestada de moscas da fruta e com restos de polpa. Após a autoclavagem restos da fruta cobriam as cascas com gordura da própria fruta, produzindo forte cheiro, atraindo novamente as moscas-da-fruta. O meio gorduroso que cobria as cascas poderia ser um possível meio rico em nutrientes para microorganismos, sendo dispensado antes mesmo de ser utilizado no meio.

Foi testado casca de pinus que preencheu todos os requisitos exigidos: provavelmente é atóxica, não causa dano físico ao animal, proporciona bom isolamento do chão, fácil obtenção e manejo, absorção facilitada dos dejetos até que possa ser feita a troca, barato, facilmente autoclavável. Por todos estes motivos foi concluído ainda que proporcionasse enriquecimento ambiental, além da vantagem a mais de ser estética. Os animais rastejavam sobre o piso sem causar qualquer deslocamento e o material necessitava de trocas bastante espaçadas, perdurando por todo o experimento. Mader (2006) citou folhas de jornal, papelão e grama sintética, tendo como desvantagem não poder fornecer um microambiente para as bactérias como aqueles encontrados na natureza. O autor ainda citou que pequenas pedras, lascas de madeira e pedras lisas ou cascalho podem ser utilizados, no entanto corre-se o risco de serem ingeridas pelos répteis. Apesar de sugerir materiais diferentes, no caso dos répteis deve-se sempre adaptar um material com condições ideais como já supracitado e de acordo com a espécie trabalhada.

A escolha do material de ambientação foi baseada nos materiais que estavam disponíveis para uso ou que fossem facilmente adquiríveis para fins de montagem de um recinto próximo do habitat natural desta espécie. O feno preencheu diversos requisitos para substrato e pode ser afogado para simular arbustos e folhagens rasteiras,

³ Kathleen Grego – Médica Veterinária Responsável – Instituto Butantan São Paulo – SP

acrescentando isolamento térmico. A utilização da autoclavagem justifica-se pela existência de grande variedade de parasitas, tanto internos quanto externos, que possam em diversas fases de desenvolvimento estar presentes no material, já que são oriundos de pastagens muitas vezes produzidas juntamente com a criação de animais de produção e estes raramente estão livres de parasitas. Estes podem fazer ciclo nos répteis por serem parasitas naturais ou ciclo errático e, por isso, a autoclavagem se faz necessária. Galhos aumentaram a área útil do recinto verticalmente, além de lembrar locais onde os animais são encontrados como citou Sazima (1988) plantações, bordas de mata, pequenos arbustos e clareiras onde fazem termorregulação. Hartmann et. al. (2003) também encontraram durante observações serpentes *Bothropoides jararaca* em pedras, fendas de pedras e abrigados sob vegetação arbustiva. Os canos de PVC servem para esconderijo, pois simulam tocas e orifícios naturais encontrados no meio ambiente, onde esses animais se escondem. Conclui-se que os materiais foram efetivos, porque os animais estavam sempre escondidos.

Mesmo não havendo observações noturnas foi fácil observar que exerciam atividade intensa noturna, pois as serpentes sempre estavam em locais diferentes no dia seguinte, mantendo-se imóveis durante o dia. Hartmann et. al. (2003) comentaram que em observações para estudo de alimentação em serpentes *Bothropoides jararaca*, durante o dia observaram as serpentes sobre pedras, em fendas de pedras e parcialmente escondidas em arbustos, enquanto durante a noite elas estavam no chão e sobre as vegetações. Apesar da identificação individual ser por meio da microchipagem, as serpentes diferiam entre si morfologicamente e não era difícil ao observador atento identificar quem estava fora dos esconderijos nos dias posteriores, comparando com as anteriormente vistas. Sazima (1988) comentou em seu estudo de comportamento de serpentes que utilizou marcas naturais para identificar individualmente os animais, exatamente como demonstra a figura 25.

Não houve necessidade de grandes desinfecções durante o experimento, pois os dejetos não atingiam o chão e MADER (2006) citou que um ambiente estéril é indesejado. Somente antes do início do experimento foi feita a desinfecção rigorosa, porque o local era utilizado como canil e havia a possível contaminação por parasitas.

A microchipagem identificou numericamente o animal e com o banco de dados organizado, pôde-se fazer toda a rastreabilidade relacionada ao histórico anterior. É possível fazer a identificação individual dos animais pelo seu desenho particular como fez Sazima (1988), pois cada animal possui um desenho particular, como mostra a

figura 25. A principal desvantagem é a ocasional semelhança de padrão de desenhos entre os animais, contudo as vantagens da microchipagem são soberanas.

Figura 25: Identificação por acidentes naturais. À esquerda a foto dos animais com suas manchas características e à direita, exemplos das manchas individuais que podem ser usadas como identificação, grifadas em amarelo.



Como já foi citado, o micropore aderiu de tal forma na pele das serpentes que mesmo usando água morna e sabão, não se desprendia: um método inventivo e prático de identificar ecdises.

O manejo propriamente dito da alimentação era feito de maneira individualizada, pois assim podemos controlar a presença ou não da ingestão da presa, bem como a quantidade ingerida. Não havendo regurgitos, possivelmente os animais não estavam sendo acometidos por doenças ou fatores que os levassem a ter este sinal clínico. Segundo Mader (2006) as causas de regurgito não estão tão claras quanto estão em mamíferos, mas podem ser relacionadas à presa muito grande ou grande quantidade fornecida, certos parasitas gastrointestinais, intoxicações e condições metabólicas. O autor ainda relatou que a escolha da presa é de maneira mais empírica. Ainda faltam dados mais concretos quanto ao tamanho ou quantidade de presa que deve ser dada às serpentes.

As diretrizes de alimentação foram seguidas conforme os animais eram alimentados no serpentário de origem, portanto credita-se a demora do início da alimentação a uma necessidade de tempo de ambientação maior. Sendo assistida, qualquer investida da presa contra o predador estaria imediatamente interrompida. Não foram encontrados estudos com relação ao tempo de ambientação para essa espécie.

O fornecimento às serpentes de animais mortos aquecidos ou recém-mortos é associado à prevenção dos ataques que roedores vivos podem causar às serpentes, além do aspecto humanitário de tratar os roedores. Embora esse seja um argumento plausível, é preferível oferecer animais vivos e permitir à serpente que expresse seu comportamento natural de caça, ganhando em enriquecimento ambiental e minimizando os efeitos do cativeiro. Além disso, devido a fração proteolítica presente no veneno da serpente, este pode provavelmente ajudar a digerir a presa. Devem-se respeitar sempre os hábitos de caça e a cadeia alimentar que ocorre sem a interferência humana. Foi feita a tentativa de alimentar as serpentes-piloto com neonatos congelados que eram descartados por criatórios científicos. Estes eram aquecidos a uma temperatura ao redor de 30 graus e oferecidos às serpentes da mesma maneira que os vivos. Não foi observado alimentação. Elas já haviam se alimentado no recinto da universidade com animais vivos, por isso a hipótese de que a alimentação não foi aceita por desajuste na ambientação está descartada. Sendo assim neste experimento conclui-se que realmente a alimentação com animais vivos foi efetiva para esta situação. Inexistem estudos que afirmem com clareza a quantidade de presa que o animal deve consumir, portanto dificulta-se precisar tal medida.

Algumas serpentes parecem não ter procurado água, concluindo-se este fato, porque em um momento durante o tratamento foi posta uma serpente ocasionalmente ao lado de uma esponja embebida em água sobre a pia do recinto e esta passou a tentar tomar água dali. Imediatamente a serpente foi gentilmente guiada a um balde de água de onde ingeriu grande quantidade de água. A partir deste momento, os animais foram todos guiados manualmente para a água, uma vez ao dia, e não raro bebiam água na presença do pesquisador. A maioria destes eram machos e as mortes não relacionadas à anestesia possivelmente têm relação com este fato. Não existem dados na literatura que tratam especificamente sobre o consumo de água em serpentes.

O tempo de ambientação foi determinado principalmente pela pressa para concluir o experimento, devido às enormes barreiras burocráticas para realização de trabalho científico em animais silvestres. Havia ainda a necessidade de se criar um alojamento específico, a falta de financiamento para pagamento de pessoal para mão-de-obra, bem como para comprar material de consumo e específico. Todavia supõe-se que o tempo deva ser maior devido à mortalidade resultante, ainda supondo que os animais devam estar se alimentando plenamente para serem submetidos à cirurgia.

Foi observado que os animais tendiam a se esconder durante o dia mais intensamente que durante a noite. Havia uma grande janela no recinto que permitia a entrada de luz solar, então o dia e a noite eram definidos no local, mesmo com a luz de aquecimento que poderia interferir nesta percepção. Este fato condiz com as observações de Sazima (1988) que caracteriza a serpente como de hábitos noturnos, além das observações feitas por Hartmann et. al. (2003) ao comparar os locais onde as serpentes *Bothropoides jararaca* forma encontradas durante o dia e a noite.

Poucas pessoas conseguem chegar perto de serpentes venenosas, manejá-las fica reservado a uma porcentagem menor, mesmo de profissionais do ramo das ciências biológicas e da saúde e a destreza e capacidade de conhecer o animal e saber até que ponto uma serpente jararaca é “mansa”, fica subordinada a pessoas com ampla experiência, mesmo assim sujeita a erros, já que animais silvestres nem sempre são previsíveis. Portanto foi determinado este grau de mansidão empiricamente, até porque inexistem dados na literatura que falem especificamente sobre a relação homem-serpente peçonhenta no sentido de domesticação.

É possível que a queda de peso corporal seja creditada ao período de anorexia da ambientação. Os animais, por terem mais espaço, exercitavam-se mais e despendiam mais calorias do que no serpentário de origem. Esta pode ser também a causa dos animais demorarem mais para ganhar peso, mesmo com a alimentação passando a ser mais regular. O metabolismo dos répteis, especialmente quando relacionamos à alimentação, necessita de mais estudos para podermos afirmar com respaldo as necessidades energéticas e o volume de alimento para cada espécie. Estes dados inexistem ou não foram encontrados para efeito de comparação. Mader (2008) cita em artigo publicado que mesmo com todas as necessidades dos répteis supridas, ainda alguns podem ter uma chamada síndrome da má-adaptação onde o animal não se alimenta, podendo ser originário de estresse crônico. Supõe-se que, assim como os mamíferos, que começam a metabolizar proteínas para regular a glicemia e acumulam metabólitos tóxicos, os répteis podem ter alguma substância derivada do ácido úrico que pode se acumular e causar danos ainda desconhecidos (MADER, 2008).

6.2 Aspectos Clínicos Gerais

Segundo Mader (2006), a presença de dermatófitos em répteis é relacionada principalmente com a condição de cativeiro em que o animal é submetido. Em um

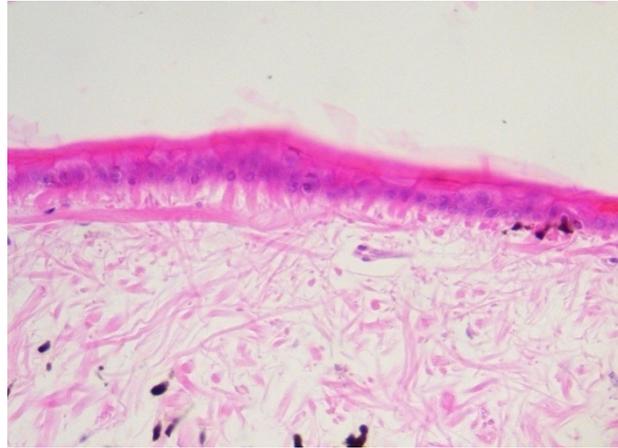
exame relacionado feito pela nossa equipe em parceria com o Laboratório de Micologia Veterinária da UFRGS foi isolado de 10 serpentes escolhidas ao acaso do mesmo Núcleo de Ofiologia *Penicillium sp.*, *Candida sp.*, *Geotrichum sp.*, *Cladosporium sp.* e um hialohifomiceto não identificado. Os resultados mostram populações de fungos oportunistas e não patogênicos. Como já citado na revisão bibliográfica, excelentes condições sanitárias podem ser prejudiciais, pois diminuem a competição bacteriana. Essas serpentes são mantidas em condições altas de higiene, o que é a causa provável da infestação por fungos nesses animais. Mantendo-as em um ambiente enriquecido e com população bacteriana controlada, a infecção fúngica tende a desaparecer. No caso deste experimento, o feno e todo o material que usamos em ambientação era autoclavado, por albergar diversos parasitas que podem causar injúria às serpentes, sendo diretos ou erráticos e a armazenagem pode permitir a proliferação fúngica. A casca de pinus usada não era estéril. Este material provém de casca de árvores que, apesar de estar sujeita a intempéries da natureza, são polidas antes de serem comercializadas. É muito provável que o processo de polimento elimine grande parte dos contaminantes, mantendo certa população bacteriana. Assim sendo, com a eficácia do tratamento tópico e com a não recidiva do problema, pode-se dizer que a infecção foi tratada e controlada com sucesso.

No dia posterior a cirurgia, ao exame clínico notou-se que havia secreções que se acumulavam no interior do curativo que então foi retirado, pois a ferida estava bem suturada e, como já citado na revisão bibliográfica, os répteis não costumam retirar os pontos. A ausência de alterações histopatológicas relacionadas a contaminação secundária demonstrou que neste caso a proteção da ferida cirúrgica para evitar contaminação foi dispensável.

6.3 Aspectos Clínicos das Feridas Cirúrgicas

Como vemos na figura 26, a derme da serpente é delgada e a camada de queratina que envolve a pele onde não há escamas é fina demais para ancorar e manter um fio de sutura, sendo a pele mais fina que a própria agulha que usamos na rotina. Utilizar fios menos calibrosos para suturar as serpentes pode ser contra-indicado por não conseguir manter a pele justaposta, rompendo-se. A escama apresenta uma espessura de queratina mais densa que a pele que o circunda e, por isso, é a região de escolha para fixar o fio.

Figura 26: Fotomicrografia da epiderme hígida de uma serpente *Bothropoides jararaca*. Nota-se a fina camada de células recoberta por queratina. Aumento de 400X, coloração de hematoxilina-eosina. Fonte: próprio autor.



A sutura com ponto isolado simples promove uma estrutura segura para a cicatrização sem deixar grande quantidade de material estranho entre os tecidos suturados. Tomando-se o cuidado de se utilizar a técnica cirúrgica asséptica, é natural que não tenhamos tido contaminação secundária. A pele não perdia sua continuidade em relação à topografia e as bordas mantidas em aposição pelo ponto naturalmente cicatrizaram mais rápido. Toombs e Clarke (2007) afirmam que o ponto isolado simples é vantajoso no sentido de ser facilmente aplicável, promover a aposição dos bordos e ainda, caso um ponto sofra deiscência, não prejudica o restante da sutura. Citam ainda que se este ponto for muito apertado, pode causar a eversão da pele. Houve absorção do ácido poliglicólico, porém ele demorou mais tempo para ser metabolizado, já que nas duas primeiras semanas mantinha a força de tensão, não se rompendo com a tração. Se mais tarde a parte interna se desprendeu com facilidade e a parte externa continuava intacta e resistente é natural concluir que houve certo grau de metabolização. Segundo Mader (2006) sendo os répteis animais de sangue frio logicamente um material que é rapidamente absorvido pelos mamíferos pode demorar mais tempo ou até mesmo não ser absorvido pelos répteis. O fio mononáilon, por ser inabsorvível, logicamente deve ser retirado e o resultado de 30% dos animais não necessitarem de retiradas de pontos é explicado pelo fato de que a fisiologia da ecdise acabou por liberar espontaneamente o fio.

A aplicação da cola cirúrgica em répteis com este padrão de escamas pode se tornar trabalhoso, pois foi visto na prática que a cola tende a penetrar por entre as escamas, desperdiçando material. A prática do cirurgião ajuda a aplicar mais perfeitamente a cola sobre o corte, bem como a manter os bordos das feridas posicionados perfeitamente para a aplicação. Ainda há dificuldade, pois, segundo o fabricante, a cola adere a látex e aço inoxidável. Se o octil-2-cianoacrilato não manteve contato com o tecido no interior da incisão, ela não poderia induzir resposta inflamatória ao tecido aplicado, a justificativa mais aceita para a reação que obtivemos está no fato que pelo menos algum conteúdo microscópico penetrou pela incisão e teve uma pequena reação, além disso, a própria incisão causa uma resposta inflamatória que é o início do processo cicatricial, pois segundo Peacock e Van Winkle (1970) ao seccionarmos células, estas liberam substâncias na região que são responsáveis por iniciar o processo, o que explica também a secreção sero-sanguinolenta que havia no pós-cirúrgico. A reação que foi obtida com a cola não diferiu do restante dos materiais e a explicação para que o resultado clínico deste material tenha sido melhor, provavelmente deve-se ao fato de que nenhum material estranho fica na ferida, pois a cola é aplicada no local com a borda da ferida bem posicionada, por sobre a camada de queratina. A cicatrização ocorre sob a camada de cola e nenhum corpo estranho penetra a derme, se a cola for colocada corretamente. A pele cicatriza e diferencia-se no processo de ecdise normal, com descrito na revisão bibliográfica deste trabalho e a porção externa da cola simplesmente é dispensada juntamente com a pele trocada.

Quando foi utilizado um ponto de eversão, além a pele ter de cicatrizar efetivamente no sentido de refazer a integridade do local, ela deve retomar à topografia original que foi desfeita quando fazemos a eversão da pele. Além disso, a pele evertida resulta na produção de uma ferida aberta, que são as próprias bordas de pele direcionadas externamente. É provável que o tecido aderido, que no momento do exame clínico parecia-se partes de pele de ecdise, estava incorporado à cicatriz. Toombs e Clarke (2007) dizem que o ponto de eversão pode ser aplicado na pele, porém ele é indesejável. Mader (2006) cita ainda o uso de cola, adjuvante ao procedimento de eversão para minimizar a contaminação causada por esse tipo de sutura.

Serpentes que fazem ecdise bem sinalizam boa saúde (MADER, 2006), sendo assim havia a necessidade de identificar os animais que o fizeram. Raramente a presenciamos e é demorado e difícil identificar a serpente que a fez pelo desenho da pele desprezada no meio. Um micropore de boa qualidade colado à pele bem seca da

serpente não sai, adere-se de uma maneira tal que fica realmente difícil de retirá-lo e, no caso deste experimento, foi esta a razão de não se proteger a ferida utilizando este material. Escolheu-se escrever a lápis, pois mesmo se a serpente entrar no recipiente de água, não borraria a escrita, não perdendo a função. Escrevendo diretamente sobre o rolo de micropore e depois se recortando o fragmento inscrito para colar na serpente minimiza a perda de cola, diferentemente se esse fragmento for aderido a uma superfície lisa e rígida para inscrever. Não há motivos para que a disecdise ocorrida nos animais no pós-cirúrgico seja uma preocupação para o experimento como um todo, pois ficou claro que somente ocorreu devido a barreira física da sutura. Portanto na maioria dos casos este efeito não é relevante. Onde ela era por inteiro a causa ainda é desconhecida, porém Mader (2006) cita como causas relacionadas prováveis de disecdise umidade e temperatura inadequadas, idade e excesso de cuidados, podendo ainda ser devido a problemas respiratórios, mas não deve ser encarada como uma doença, e sim, como sinal clínico. Sendo os animais mantidos no mesmo ambiente, não há relação com os fatores externos e o animal acometido pela disecdise não apresentava sinais de problemas respiratórios. Assim sendo a causa desta disecdise permanece desconhecida.

6.4 Biópsias Cutâneas

Os tempos escolhidos para obtenção dos dados deste experimento foram satisfatórios, pois existe evolução da cicatrização no período de três semanas de diferença entre os três procedimentos. Smith e Barker (1988) também realizaram biópsias em três e seis semanas. Citado por Mader (2006) os répteis são animais ectodérmicos e têm seu metabolismo mais lento comparado aos animais de sangue quente. Por conseqüência é esperado que dependa da temperatura ambiente. O estudo supracitado de Smith e Barker (1988) utilizou a eutanásia como forma de coleta do material para exame histopatológico. Este procedimento, simplesmente para se coletar um fragmento de pele, é desnecessário e inadequado na ciência atual, pois se deve buscar preservar os animais silvestres e este estudo provou o óbvio: uma simples biópsia é suficiente para coleta de material.

Ao fixar a ordem das incisões e biópsias e fazer uma pré-programação das incisões via gabarito buscou-se a melhor forma de se obter rastreabilidade durante o experimento, para assim diminuir a chance de erros. É importante manter um padrão de

procedimentos para que os resultados sejam confiáveis e qualquer possibilidade de erro seja rapidamente ajustada.

A incisão foi feita duas escamas acima da linha entre as escamas dorsais e ventrais para sobrar uma linha de escamas para ancorar o fio na realização das biópsias.

6.5 Aspectos Histopatológicos

Mader (2006) citou que a cicatrização em répteis obedece a mesma sequência de fatos que rege a cicatrização de mamíferos, porém certamente o tempo de reação aos quais estes processos estão sujeitos é mais espaçado devido a temperatura corporal dos animais. Segundo Gregory (1999), Peacock e Van Winkle (1970) e Singer e Clark (1999) em 7 a 14 dias podemos ver a proliferação final de fibroblastos e a sua organização já sedimentada no tecido. Neste experimento os répteis mostraram estar em pleno estágio de diferenciação e proliferação dos fibroblastos na terceira semana e na sexta, a estrutura estava organizada. Ainda em relação à cicatrização, o tecido de granulação que, segundo Boothe (2007), forma-se até 15 dias depois da injúria ocorrer e vai se tornando cada vez mais fibroso, em répteis apenas na sexta semana foi observado.

O tecido de granulação, assim como as fibras colágenas organizadas, fazem a sustentação da ferida (BOOTHE, 2007). Se foi obtida uma ferida que somente à sexta semana tinha esses componentes presentes e organizados, parece lógico prorrogar a retirada de pontos quando for o caso de um paciente da rotina, para depois desta fase. Diferentemente dos mamíferos onde existe uma sequência bastante específica de eventos celulares e que existe uma ordem em que as células ficam disponíveis na lesão (GREGORY, 1999; PEACOCK E VAN WINKLE, 1970; SINGER E CLARK, 1999). Nos répteis essa ordem parece estar ignorada, pois não houve diferença significativa no número de células entre os tempos comparados e este os fornece com certa clareza quais as células que proliferam ou desaparecem da região.

Mader (2006) expôs que heterófilos e macrófagos vão até o local da ferida combater infecções secundárias e debris e heterófilos estão no local de cicatrização até o tecido de maturação estar definido. Com os resultados obtidos foi visto que heterófilos e linfócitos foram encontrados nos sítios cicatriciais, diferentemente ao encontrado na literatura. Os granulomas foram um achado de apenas cinco amostras que representam menos de 5% do total de amostragem e são creditadas a reação ao material de sutura, principalmente como variação individual.

6.6 Óbitos

Dos óbitos por rompimento de sacos aéreos pode-se concluir que a pressão intrapulmonar que devemos submeter esse animal quando em respiração assistida deve ser baixa. Foi observado que esta espécie retorna do plano anestésico rapidamente, sem ocorrer variações nos batimentos cardíacos e ainda há apnéia que segundo Bennett (1996) é normal. Ao retornar subitamente, o anestesista, no desejo de reverter logo a situação, acabava por forçar apressadamente isoflurano diluído em oxigênio e ocorreram rompimentos dos sacos aéreos. Existem dois sacos aéreos na região anterior, caudalmente a cabeça. Estes sacos foram encontrados por pesquisadores que ainda não publicaram. Logicamente que os fatores medo e risco entravam no trabalho diário de todos. Não foram achadas lesões durante a necropsia, nem alterações histológicas relevantes que explicassem a morte dos animais.

7 CONCLUSÃO

A ambientação proposta neste trabalho foi eficiente, porém o tempo de ambientação até que répteis possam ser submetidos à anestesia deve ser superior a dois meses.

A identificação por microchipe é eficaz e a identificação de ecdises individuais pode ser feita com eficiência pelo micropore com inscrição.

O oferecimento de *Rattus norvegicus* para alimentação é compatível com a alimentação de vida livre para serpentes *Bothropoides jararaca*.

Feridas cirúrgicas em serpentes feitas na região lateral podem ser mantidas sem curativos cirúrgicos desde que em ambiente controlado.

A sutura de aposição é uma sutura tão eficaz quanto a de eversão, sendo prática e causando uma cicatriz mais estética.

Não há diferença entre os fios usados para realizar-se a sutura cutânea em *Bothropoides jararaca*, mas o uso de octil-2-cianoacrilato tem resultado estético superior.

As ecdises ficam prejudicadas quando se usa a síntese com eversão, enquanto que a pele aposicionada consegue desprender-se mais rápida e eficientemente no meio.

8 REFERÊNCIAS

BENNETT, R. A. A review of anesthesia and chemical restraint in reptiles. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v. 22, n.3, p. 282-303, 1991.

BOOTHE, W. W., IN: Slatter, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. Barueri: Manole, 2007

BORGES-MARTINS, M., ALVES, ET AL., **Répteis**. In: Becker, F.G., RAMOS, R.A., MOURA, L. A., **Biodiversidade. Regiões da Lagoa do Casamento e dos Butiazais de Tapes, Planície Costeira do Rio Grande do Sul**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente/Secretaria de Biodiversidade e Florestas, 1 ed., 2007

FENWICK, A. M. ET. AL. Morphological and molecular evidence for phylogeny and classification of South American pit vipers, genera *Bothrops*, *Bothriopsis*, and *Bothrocophias* (Serpentes: Viperidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**. v. 156, p. 617-640, 2009

FRYE, F. L., **Condições Patológicas Relacionadas ao Ambiente de Cativeiro**. In: VILANI, R. G. D. C., **Avanços na Medicina de Répteis**. Curitiba: Finep, 2007

GREGORY, C. R., IN: **Manual of Canine and Feline Wound Management and reconstruction**. United Kingdom: British Small Animal Veterinary Association

HARTMANN, P. A., HARTMANN, M. T., GIASSON, L. O. M., Uso do hábitat e alimentação em juvenis de *Bothrops jararaca* na Mata Atlântica. **Phyllomedusa**. v. 2(1), p. 35-41, 2003

HOSGOOD, G., Stages of Wound Healing and Their Clinical Relevance. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**. v. 36, pg 667–685, 2006

JUDAH, V., e NUTTALL, K., **Exotic Animal Care and Management**. New York: Thomson, 2008

LEITÃO DE ARAÚJO, M. ELY, L. A. M. Notas sobre a biologia de tanatofídios criados em cativeiro. **IHERINGIA, Ser. Zoologia**. Porto Alegre (55): p. 9-26, 1980

LEMA, T. de., **Os Répteis do Rio Grande do Sul: atuais e fósseis**. Porto Alegre: Edipucrs, 1ed., 2002.

MADER, D. Approach to the Anorectic Reptile. IN: Southern European Veterinary Conference. Barcelona, 2008

MADER, D.R., **Reptile Medicine and Surgery**. Marathón: Saunders Elsevier, 2 ed., 2006

MESSONIER, S. P., **Common Reptiles Diseases and Treatment**. Plano: Blackwell Science, 1ed., 1996

PEACOCK, E. E., VAN WINKLE, W., **Surgery and Biology of wound repair**. Philadelphia: Saunders Company, 1970.

PÍPARO, L. J., Particularidades Cirúrgicas em Répteis. In: VILANI, R. G. D. C., **Avanços na Medicina de Répteis**. Curitiba: Finep, 2007

Projeto Cobras Brasileiras. Capturado em 29 julho. 2010. Online. Disponível na internet www.cobrasbrasileiras.com.br

SAZIMA, I. Um estudo de biologia comportamental de jararaca, *Bothrops jararaca*, com uso de marcas naturais. **Memórias do Instituto Butantan**. V. 50, pg 83-90, 1988.

SINGER, A. J., CLARK. A. F. Cutaneous Wound Healing. **The New England Journal of Medicine**. V. 341, n. 10, pg 738-746, 1999

SMITH, D. A., BARKER, I. K., Healing of Cutaneous Wounds in the Common Garter Snake (*Thamnophis sirtalis*). **Canadian Journal of Veterinary Research**. v. 52, p. 111-119, 1988

TOOMBS, J. P. CLARKE, K. M. IN: Slatter, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. Barueri: Manole, 2007

WHITE, R. A.S. IN: FOWLER, D., WILLIAMS, J., **Manual of Canine and Feline Wound Management and reconstruction.** United Kingdom: British Small Animal Veterinary Association

9 ANEXO A – TABELA COM ESCORES OBTIDOS NO EXAME HISTOPATOLÓGICO

	Macrofagos		Linfócitos	
Aposição Nylon 3 semanas 10 amostras	9	90% presença discreta	4	40% ausência
	1	10% presença moderada	5	50% presença discreta
			1	10% presença moderada
Aposição Nylon 6 semanas 13 amostras	1	92,31% presença discreta	7	53,85% ausência
	2			
	1	7,69% presença moderada	5	38,46% presença discreta
			1	7,69% presença moderada
Aposição Acido Poliglicoico 3 semanas 11 amostras	1	90,9% presença discreta	2	18,17% ausência
	0			
	1	9,1% presença moderada	8	72,73% presença discreta
			1	9,1% presença moderada
Aposição Acido Poliglicoico 6 semanas 12 amostras	1	100% presença discreta	7	58,33% ausência
	2			
			5	41,67% presença discreta
Aposição Cola 3 semanas 10 amostras	1	10% ausência	2	20% ausência
	9	90% presença discreta	7	70% presença discreta
			1	10% presença moderada
Aposição Cola 6 semanas 12 amostras	1	100% presença discreta	7	58,33% ausência
	2			
			5	41,67% presença discreta
Eversão Nylon 3 semanas 11 amostras	1	9,1% ausência	4	36,36% ausência
	5	45,45% presença discreta	3	27,28% presença discreta
	5	45,45% presença moderada	2	18,18% presença moderada
			2	18,18% presença acentuada
Eversão Nylon 6 semanas 12 amostras	1	100% presença discreta	5	41,67% ausência
	2			
			7	58,33% presença discreta
Eversão Ácido Poliglicoico 3 semanas 10 amostras	5	50% ausência	2	20% ausência
	5	50% presença discreta	5	50% presença discreta
			2	20% presença moderada
			1	10% intenso
Eversão Ácido Poliglicoico 6 semanas 13 amostras	1	100% presença discreta	8	61,54% ausência
	3			
			5	38,46% presença discreta

	Heterófilos		Fibroblastos	
Aposição Nylon 3 semanas 10 amostras	4	40% ausência	8	80% presença discreta
	6	60% presença discreta	2	20% presença moderada
Aposição Nylon 6 semanas 13 amostras	6	46,15% ausência	13	100% presença discreta
	7	53,85% presença discreta		
Aposição Acido Poliglicoico 3 semanas 11 amostras	3	27,27% ausência	8	72,73% presença discreta
	8	72,73% presença discreta	3	27,27% presença moderada
Aposição Acido Poliglicoico 6 semanas 12 amostras	5	41,67% ausência	9	75% presença discreta
	7	58,33% presença discreta	3	25% presença moderada
Aposição Cola 3 semanas 10 amostras	5	50% ausência	1	10% ausência
	5	50% presença discreta	9	90% presença discreta
Aposição Cola 6 semanas 12 amostras	8	66,67% ausência	1	8,33% ausência
	4	33,33% presença discreta	10	83,4% presença discreta
			1	8,33% presença moderada
Eversão Nylon 3 semanas 11 amostras	3	27,27% ausência	1	9,1% ausência
	8	72,73% presença discreta	7	63,63% presença discreta
			3	27,27% presença moderada
Eversão Nylon 6 semanas 12 amostras	6	50% ausência	11	91,67% presença discreta
	3	25% presença discreta	1	8,33% presença moderada
	3	25% presença moderada		
Eversão Ácido Poliglicoico 3 semanas 10 amostras	2	20% ausência	6	60% presença discreta
	7	70% presença discreta	4	40% presença moderada
	1	10% presença moderada		
Eversão Ácido Poliglicoico 6 semanas 13 amostras	7	69,23% ausência	12	92,30% presença discreta
	4	30,77% presença discreta	1	7,69% presença moderada