CONBRACIB
IV Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas On-line

ANÁLISE HEMATOLÓGICA DE *PANTHEROPHIS GUTTATUS* E *CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS* NO CENTRO DE REABILITAÇÃO DE ANIMAIS SILVESTRES DA UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA

AMANDA SIVIERI; HANNA SIBUYA KOKUBUN; FLÁVIA VILLAÇA MORAIS; MATHEUS SALGADO DE OLIVEIRA

RESUMO

No Brasil, as serpentes do gênero *Crotalus* estão representadas por uma única espécie a *Crotalus durissus terrificus*, que habita vegetações de Cerrado e Caatinga, possuindo alta adaptabilidade. A espécie *Pantherophis guttatus* pertence a um outro gênero de serpentes, o *Pantherophis*, família Colubridae, as serpentes dessa família não são peçonhentas e podem ser encontradas em todos os continentes, menos na Antártica e estão presentes desde o círculo ártico até o sul da América do Sul e África. O Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (CRAS) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), realiza o recebimento de animais resgatados, e possui como objetivo central a reintrodução desses animais em seu habitat natural. O presente estudo teve como objetivo analisar os parâmetros hematológicos de *Pantherophis guttatus* e *Crotalus durissus terrificus* recebidos no CRAS UNIVAP por meio de hemogramas realizados manualmente no ano de 2023. Foram realizados 14 hemogramas, 10 de *P. guttatus* e 4 de *C. d. terrificus*. As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas de Animais Silvestres do CRAS (LabCRAS). Dos parâmetros analisados a proteína plasmática total foi a menos relatada por outros trabalhos, a dosagem de hemoglobina e de hematócrito apresentaram pequenas diferenças na comparação com outros estudos o que pode ser devido a diferença na técnica empregada e/ou ser devido as variações que podem sofrer o perfil hematológico de répteis como: mudanças ambientais, sexo, estresse, dieta, idade, hormônios e hidratação. As análises hematológicas são necessárias e devem ser realizadas de forma rotineira para auxiliar no quadro clínico dos animais, em especial *P. guttatus* e *C. d. terrificus* que apresentam índices de referência do hemograma escassos na literatura especializada. Os dados encontrados contribuem para a padronização de índices de referência hematológicas dessas serpentes. Sugere-se aprofundamentos quanto ao estudo hematológico dessas serpentes em situação de cativeiro e de vida livre.

Palavras-chave: Análises Clínicas; Serpentes; Hematologia; Hemograma; Índices Hematimétricos.

1 INTRODUÇÃO

A serpente *Crotalus durissus terrificus* habita, comumente, vegetações de Cerrado e Caatinga, contudo, pela sua alta adaptabilidade, também pode ser vista em áreas antrofizadas, como as atividades agrícolas em porções da Mata Atlântica (COSTA; BÉRNILS, 2015). Por ser uma espécie que pode viver também em regiões urbanas (FERREIRA JÚNIOR; BARRAVIEIRA, 2004), o risco de acidentes ofídicos pode ser grande (SALOMÃO; SANTOS; PUORTO, 1995; DO VALLE; BRITES, 2012). As serpentes do gênero *Crotalus* no Brasil são

DOI: 10.51189/conbracib2023/26125

terrestres, robustas e pouco ágeis. Podem ser encontradas em campos abertos, áreas secas, arenosas e pedregosas, todavia, raramente na faixa litorânea. Não têm por hábito atacar e, quando excitadas, denunciam sua presença pelo ruído característico do guizo ou chocalho (FUNASA, 2001). A serpente *Pantherophis guttatus* pertence a um outro gênero de serpentes, o *Pantherophis*, família Colubridae, uma característica comum de todas as serpentes dessa família é que não são peçonhentas. Os indivíduos desta família podem ser encontrados em todos os continentes, menos na Antártica e estão espalhadas desde o círculo ártico até o sul da América do Sul e África (BLOUIN-DEMERS *et al*., 2002; BLOUIN-DEMERS *et al*., 2005). A espécie *P. guttatus* é nativa do sudeste dos Estados Unidos da América (EUA), do sul de Nova Jersey ao sul da Flórida e do oeste ao leste da Louisiana, populações isoladas, também ocorrem no Kentucky e no sul do Arkansas (CONANT; COLLINS, 1998; BURBRINK, 2002).

Empreendimentos de manutenção da fauna silvestre são responsáveis pelo acolhimento dos animais diretamente entregues nas próprias instituições ou vindos dos Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) (VILELAA *et al*., 2018). O Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (CRAS) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP) é um desses empreendimentos e recebe animais resgatados por autoridades governamentais e munícipes para, se aptos de acordo com a avaliação clínica veterinária e laboratorial, poderem ser reintroduzidos na natureza. As análises hematológicas são de extrema importância, pois permitem conclusões diagnósticas e prognósticas de grande número de patologias (THRALL *et al*., 2015). Informações sobre parâmetros hematológicos são escassas, especialmente quando se trata de espécimes silvestres como as serpentes em cativeiro. O presente trabalho teve como objetivo analisar os parâmetros hematológicos de *Pantherophis guttatus* e *Crotalus durissus terrificus* recebidos no CRAS UNIVAP no ano de 2023.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas análises hematológicas de 14 serpentes, dez de *P. guttatus* e quatro de *C. d. terrificus* no Laboratório de Análises Clínicas de Animais Silvestres do CRAS (LabCRAS) da UNIVAP. O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) registrado sob protocolo de número A01/CEUA do ano de 2023. As análises foram realizadas por categorias: Contagem Total de Trombócitos (CTT), corrigida em lâmina pelo método de Bárbara H. O'Connor, descrita por Comar e colaboradores (2009); Hematócrito (Ht), pela técnica do capilar para microhematócrito; Proteínas Plasmáticas Totais (PPT), dosagem com refratômetro; Hemoglobina (Hb), pelo método de cianometahemoglobina; Contagem Total de Eritrócitos (CTE) e Contagem Total de Leucócitos (CTL), pelo método de diluições em soluções de Natt-Herrick, Hayen e solução salina com contagem em câmara de Neubauer. Os índices hematimétricos são parâmetros obtidos das interações das taxas de Ht, Hb e CTE, constituem-se em volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (THRALL *et al*., 2015). No presente estudo, os índices hematimétricos foram calculados conforme o preconizado por Thrall e colaboradores (2015).

Para a dosagem de proteínas plasmáticas totais (PPT), fora utilizado refratômetro portátil manual Contec® modelo RZ-126 ATC, em sangue total colhido com anticoagulante. Primeiramente, a amostra foi utilizada para preencher ¾ de um tubo capilar para microhematócrito sem aditivos que, posteriormente, foi selado com a utilização de uma chama e colocado em uma centrífuga para tubos capilares CELM® modelo MH, a 5 minutos por 10000 RPM a 12000 RPM. A fração vermelha formada, após a centrifugação, foi utilizada para estimar o hematócrito (%), utilizando tabela de referência de hematócrito específica para análise veterinária. A coluna de plasma formada, após a centrifugação, foi utilizada para dosar a concentração de proteínas plasmáticas totais (PPT), preenchendo o refratômetro após

DOI: 10.51189/conbracib2023/26125

rompimento manual do tubo capilar acima da capa flogística, conforme Thrall e colaboradores (2015).

A dosagem da hemoglobina foi realizada pelo método da cianometahemoglobina com espectrofotômetro KASVI® modelo K37-VIS, por meio dos kits Labtest® referência 43 e padrão de hemoglobina Labtest® referência 47. Para a centrifugação da amostra foi utilizado uma centrífuga Fanem® Excelsa II, modelo 206BL. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro ajustado a 100% de transmissão, utilizando-se como branco a água destilada, em comprimento de onda 540 nm, a dosagem foi realizada de acordo com Dias (2010). A análise da morfologia dos eritrócitos foi feita de acordo com Reagan e colaboradores (2011) por microscopia óptica com microscópio Olympus® CH30, em lente de aumento de 1000x, para a coloração foi utilizado o método Panótico, com corante hematológico instantâneo.

Os dados obtidos a partir de todos as observações foram organizados utilizando-se do programa Microsoft Office Excel® e posteriormente foram tabulados e analisados por estatística descritiva para determinar a média aritmética, o desvio padrão e para os valores mínimo e máximo foi considerado intervalo de confiança de 95%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos das análises hematológicas foram organizados em um quadro contendo os índices hematimétricos, PPT, CTE, CTL, CTT provenientes das serpentes *P. guttatus* e de *C. d. terrificus* recebidas pelo CRAS UNIVAP no ano de 2023 (Quadro 1).

Quadro 1: Dados dos índices hematimétricos, PPT, CTE, CTT e CTL dos dez indivíduos de *Pantherophis guttatus* (PG) e quatro indivíduos de *Crotalus durissus terrificus* (CDT) recebidos no CRAS UNIVAP no ano de 2023.

Registro	CTE (mm^3)	CTL (mm^3)	CTT (mm^3)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (%)	Ht (%)	PPT (g/dL)	Hb (g/dL)
PG	7.939.500	1.859	58.500	35,44	13,75	38,82	28	9,2	10,87
PG	1.135.650	8.540	72.800	309,0	108,0	35,0	34	12,0	11,9
PG	1.145.700	9.540	59.000	28,5	11,8	41,3	24	9,1	9,92
PG	3.015.000	15.007	39.000	123,0	59	47,8	37	9,8	17,7
PG	1.206.000	14.007	35.100	266,0	125,0	47,2	32	9,0	15,11
PG	8.140.500	3.869	66.300	34,5	9,8	28,6	28	10,1	8,01
PG	6.733.500	1.005	60.000	16,4	5,5	33,9	11	5,0	3,73
PG	6.921.000	2.412	29.900	36,2	21	58,0	25	9,0	14,5
PG	6.633.000	1.708	23.400	39,3	27,8	70,5	26	9,7	18,35
PG	1.115.550	1.608	24.700	209,0	82,2	39,3	23	8,8	9,05
CDT	1.266.300	22.612	45.500	250,0	80,4	32,1	30	4,9	9,65
CDT	6.633.000	1.708	33.000	45,4	15,2	33,5	30	4,0	10,07
CDT	8.040.000	1.256	36.400	33,7	11,9	35,3	27	4,9	9,54
CDT	1.005.000	2.462	40.300	280	79,3	28,3	28	4,0	7,93

DOI: 10.51189/conbracib2023/26125

As análises estatísticas dos dados provenientes do Quadro 1 estão dispostas na Tabela 1 e permitem avaliar a média, desvio padrão e limites inferiores e superiores, considerando-se o intervalo de confiança de 95% (IC 95%) para ambas as espécies de serpentes.

Tabela 1 - Média, desvio padrão (DP) e limites minimos e máximos considerando o intervalo de confiança de 95% (IC 95%), de dados das análises hematológicas de *Pantherophis guttatus* e *Crotalus durissus terrificus*.

Pantherophis guttatus			*Crotalus durissus terrificus*	
	Média ± DP	**IC 95%**	**Média ± DP**	**IC 95%**
CTE ($x10^6$/ mm3)	4,39 ± 2,95	2,56 - 6,23	4,23 ± 3,14	1,15 – 7,31
CTL ($x10^3/mm^3$)	5,95 ± 5,11	2,78 - 9,12	7,01 ± 5,75	1,25 – 10,09
Hb (g/dL)	11,91 ± 4,32	9,23 – 14,59	9,29 ± 0,81	8,49 – 10,09
Ht (%)	26,80 ± 6,79	22,58 – 26,80	28,75 ± 1,30	27,47 – 30,02
VCM (fL)	109,73 ± 105,36	44,43 – 175,03	152,27 ± 113,29	41,24 - 263,30
HCM (pg)	46,38 ± 42,04	20,32 – 72,44	46,70 ± 33,17	14,19 – 79,20
PPT (g/dL)	9,09 ± 1,68	8,04 – 9,09	4,45 ± 0,45	4,00 – 4,89
CHCM (%)	44,04 ± 11,82	36,71- 51,37	32,30 ± 2,57	29,77 – 34,82
CTT (/mm3)	46.870 ± 17.423	36.071 - 57.668	38.800 ± 4.652	4.241 – 43.358

Os parâmetros hematológicos abordados no presente estudo (Quadro 1), foram escolhidos por auxiliarem no diagnóstico de diversas situações patológicas e terapêuticas. A dosagem de hemoglobina, proteína existente em eritrócitos é responsável, principalmente, pelo transporte de oxigênio e gás carbônico e a dosagem de hematócrito, porcentagem de glóbulos vermelhos presentes no sangue total, contribuem principalmente para o diagnóstico de anemias (DIAS, 2010; THRALL *et al*., 2015). As alterações na população de trombócitos podem ser classificadas em trombocitose e trombocitopenia. A trombocitose pode estar relacionada a doenças mieloproliferativas, já a trombocitopenia frequentemente é provocada por alterações metabólicas na produção, na distribuição ou destruição dos trombócitos, o que pode resultar em hemorragias e distúrbios de coagulação (THRALL *et al*., 2015; RIBEIRO *et al*., 2021). As proteínas plasmáticas totais (PPT), são sintetizadas pelo fígado e participam da coagulação sanguínea, regulação do pH e viscosidade sanguínea, da pressão osmótica e do transporte de nutrientes, metabólitos, hormônios e produtos da excreção. Alterações nos valores de PPT comumente indicam perda da função hepática, transtornos intestinais e renais, hemorragia ou deficiência nutricional (GONZÁLEZ *et al*., 2008). As análises hematológicas são de extrema importância na medicina veterinária e para estudos de reabilitação de animais silvestres, pois, os índices de referência dos parâmetros do hemograma auxiliam no diagnóstico de doenças e na avaliação clínica dos animais (DIAS, 2010; THRALL *et al*., 2015).

Dos parâmetros analisados a PPT foi a menos relatada por outros trabalhos, todavia, o estudo de Alves e colaboradores (2014), realizado com 6 espécimes de cascavéis *Crotalus durissus terrificus*, 3 consideradas de vida livre e 3 consideradas de cativeiro, obtiveram valores de PPT de 4,6 ± 0,32 g/dL (média ± DP) para as serpentes em situação de cativeiro e PPT de 4,13 ± 0,73 g/dL (média ± DP) para as serpentes de vida livre, o que corrobora com os achados de PPT para *C. d. terrificus* do presente estudo que teve IC95% de 4,00 - 4,89 g/dL. Alves e colaboradores (2014), analisaram parâmetros de média e desvio-padrão o que corrobora com a metodologia da análise do presente estudo, porém, o IC95% não foi abordado. No presente estudo a dosagem da hemoglobina de *Crotalus durissus terrificus* foi de 9,29 ± 0,81 g/dL (média ± DP) e IC95% de 8,49 – 10,09 g/dL (Tabela 1), o que difere do encontrado em outra espécie de serpente do gênero *Crotalus* por Valença e Guarnieri (2012), em seu estudo com 7

DOI: 10.51189/conbracib2023/26125

serpentes *Crotalus durissus cascavella* consideradas clinicamente saudáveis na avaliação clínica, obtiveram Hb de 5,98 ± 1,34 g/dL, o que pode ser devido as particularidades dessa espécie. Na presente pesquisa as serpentes *Crotalus durissus terrificus* e *Pantherophis guttatus* analisadas também foram avaliadas clinicamente pelo corpo clínico de veterinárias do CRAS da UNIVAP e consideradas saudáveis antes do início dos experimentos, corroborando com a metodologia de Valença e Guarnieri (2012). Cerreta e colaboradores (2020), realizaram estudos hematológicos e bioquímicos em 34 serpentes *Pantherophis alleghaniensis* nas dependências do zoológico da Carolina do Norte e encontraram valores de média ± DP de CTL de 8,9 ± 3,5 ($x10^3/mm^3$) o que difere do encontrado em nosso estudo para *Pantherophis guttatus* (Tabela 1), estando pouco acima. O que pode ser devido as mudanças ambientais e as diferenças fisiológicas entre as espécies, embora, ambas sejam do gênero *Pantherophis*, os estudos foram conduzidos em diferentes países com particularidades climáticas.

No estudo de BELIĆ e colaboradores (2020), realizado na Universidade de Zagreb na Croácia, 4 espécimes de *Pantherophis Obsoletus* tiveram parâmetros hematológicos avaliados em dois períodos do dia, de manhã (07:00 horas) e no início da noite (19:00 horas), o valor do hematócrito encontrado, média ± DP, foi de 18 ± 1,4 %, o que difere do encontrado na presente pesquisa (Tabela 1). BELIĆ e colaboradores (2020), ainda ressaltaram que a comparação dos valores hematológicos obtidos pela manhã e à noite revelou que não houve diferença estatisticamente significativa. No entanto, Ht, Hb, CTE, VCM, HCM, CHCM, heterófilos, azurófilos e eosinófilos foram mais baixos pela manhã do que à noite, enquanto linfócitos, monócitos e basófilos foram mais baixos à noite. As diferenças observadas em análises hematológicas de répteis da mesma espécie ou gênero, pode ser devido as variações que podem sofrer o perfil hematológico de répteis como: mudanças ambientais, sexo, estresse, dieta, idade, hormônios e hidratação (GLASER *et al*., 2013). Para BELIĆ e colaboradores (2020), a avaliação hematológica de répteis é um procedimento desafiador, pois alguns dos testes precisam ser processados manualmente o que pode impactar a confiabilidade dos resultados. A razão para o processamento manual do sangue de répteis é o fato de que todas as células sanguíneas apresentam núcleo, o que é problemático para a diferenciação automática das células sanguíneas utilizando analisadores hematológicos comerciais. Até a presente data, existem poucos estudos hematológicos de *C. d. terrificus* e principalmente de *P. guttatus* disponíveis na literatura especializada, sugere-se aprofundamentos quanto ao estudo hematológico dessas serpentes em situação de cativeiro e de vida livre.

4 CONCLUSÃO

As análises hematológicas são de extrema importância em empreendimentos de conservação de fauna silvestre e devem ser, preferencialmente, realizadas de forma rotineira, pois contribuem para o diagnóstico e tratamento de doenças. Os resultados apresentados neste estudo contribuem para a padronização de índices de referência hematológicas para *Pantherophis guttatus* e *Crotalus durissus terrificus*.

REFERÊNCIAS

ALVES, R. I. A. *et al*. Estudio comparativo de valores hematológicos de serpientes de cascavel (*Crotalus durissus terrificus*) de vida libre y de cautiverio. **Revista Biotemas**, v. 27, p. 2, 2014.

BELIĆ, M. *et al*. Preliminary evaluation of complete blood count and diurnal variation of hematological parameters in black rat snake (*Pantherophis obsoletus*). **Veterinarski glasnik**, v. 74, n. 1, p. 58-67, 2020.

BLOUIN-DEMERS, G.; PRIOR, K.A.; WEATHERHEAD, P.J. Comparative demography of black rat snakes (*Elaphe obsoleta*) in Ontario and Maryland. **Journal of Zoology**. 256, 1–10, 2002.

BLOUIN-DEMERS, G.; GIBBS, H.L.; WEATHERHEAD, P.J. Genetic evidence for sexual selection in black rat snakes (*Elaphe obsoleta*). **Animal Behaviour**. 69, 225–234, 2005.

BURBRINK FT. Phylogeographic analysis of the cornsnake (*Elaphe guttata*) complex as inferred from maximum likelihood and Bayesian analyses. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 25:465-476, 2002.

CERRETA, A. J. *et al*. Venous hematology, biochemistry, and blood gas analysis of free-ranging Eastern Copperheads (*Agkistrodon contortrix*) and Eastern Ratsnakes (*Pantherophis alleghaniensis*). **Plos one**, v. 15, n. 2, p. e0229102, 2020.

COSTA, H. C.; BÉRNILS, R. S. Répteis brasileiros: Lista de espécies 2015. **Herpetologia brasileira**, v. 4, n. 3, p. 75-93, 2015.

COMAR, S. R.; DANCHURA, H.S.M.; SILVA, P.H. Contagem de plaquetas: avaliação de metodologias manuais e aplicação na rotina laboratorial. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia [online]**. v.31, n.6. 2009.

CONANT, R.; COLLINS, J.T. **A Field Guide to Reptiles & Amphibians: Eastern and Central North America. In: A Field Guide to Reptiles & Amphibians.** Houghton Mifflin, 608 pp, 1998.

DIAS, T. M. Z. S. **Hematologia, pesquisa de hemoparasitos e mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas em Falconiformes e Strigiformes do Estado de São Paulo, Brasil**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2010.

DO VALLE, A. L.; BRITES, V. L. C. Ecologia e nomes populares de *Crotalus durissus collilineatus* (Amaral, 1926) em áreas sob efeito antrópico do Triangulo e Alto Paranaíba, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 14, n. 1, 2, 3, 2012.

FERREIRA JÚNIOR, R. S.; BARRAVIEIRA, B. Management of venomous snakebites in dogs and cats in Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 10, n. 2, p. 112–132, 2004.

FUNASA. **Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos**. 2ª Edição. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2001.

GONÇALVES, G.S., **Padrões hematológicos e morfológicos de** *Crotalus durissus terrificus* **(Laurenti, 1768) (Serpentes, Viperidae, Crotalinae) ocorrentes no município de Vassouras**, Tese de Doutorado. Universidade Federal de Juiz de Fora. Rio de Janeiro, 2016.

GONZÁLEZ, F. H. D. *et al*. **Patologia clínica veterinária: texto introdutório**. Especialização em análises clínicas veterinárias - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

GLASER, V. *et al*. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de *Bothropoides jararaca* e *Bothrops jararacussu* (Ophidia-Viperidae) mantidas em cativeiro. **Arch Vet Sci**, v. 18, n. 3, 2013.

REAGAN, W. J.; ROVIRA, A. R. I.; DENICOLA, D. B. **Atlas de hematologia veterinária: espécies domésticas e não domésticas comuns**. 2ª Edição. Thieme Revinter, 2011.

RIBEIRO, L. M. *et al*. Alterações Quantitativas das Plaquetas em Pequenos Animais: Revisão de Literatura. **Anais da Semana Universitária e Encontro de Iniciação Científica** (ISSN: 2316-8226), v. 1, n. 1, 2021.

SALOMÃO, M. DA G.; SANTOS, S. M. A.; PUORTO, G. Activity pattern of Crotalus durisus (Viperidae, Crotalinae): feeding, reproduction and snakebite. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 30, n. 2, p. 101–106, 1995.

THRALL, M.A. *et al*. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

VALENÇA, N. S. M. S; GUARNIERI, M. C. **Caracterização hematológica e bioqímica sanguínea de** *Crotalus durissus cascavella* **(Serpentes, Crotalinae) acometidas por acromia cutânea em cativeiro**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2012.

VILELAA, D.A.R.; LOPES, A.R.S. **Destinação de Animais Silvestres: A Reintrodução Como Melhor Alternativa.** Anais do I Encontro Interinstitucional do Poder Judiciário e do Ministério Público em proteção ao meio ambiente: implementando os ditames constitucionais. Minas Gerais, 2018.

DOI: 10.51189/conbracib2023/26125