

Floriano Pereira Nunes Júnior

Hematologia e Bioquímica Sérica de Testudines Continentais Brasileiros em Cativeiro

RECIFE

2017

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Pró-Reitoria de Ensino e Pós-Graduação

Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária

Floriano Pereira Nunes Júnior

Hematologia e Bioquímica Sérica de Testudines Continentais Brasileiros em Cativeiro

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador:

Prof. Dr. Fabiano Séllos Costa

Recife

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

N972h Nunes Júnior, Floriano Pereira.
Hematologia e bioquímica sérica de Testudines continentais brasileiros em cativeiro / Floriano Pereira Nunes Júnior. – 2018.
56 f. : il.

Orientador: Fabiano Séllos Costa.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Recife, BR-PE, 2017.
Inclui anexo(s), apêndice(s) e referências.

1. Animais silvestres 2. Leucograma 3. Eritograma 4. Jabutis 5. Cágados
I. Costa, Fabiano Séllos, orient. II. Título

CDD 636.089514

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Ciência veterinária

Hematologia e Bioquímica Sérica de Testudines Continentais Brasileiros em Cativoiro

Dissertação de Mestrado elaborada por

Floriano pereira Nunes Júnior

Aprovada em 21/ 11/ 2017

BANCA EXAMINADORA

Prof Dr. Fabiano Séllos Costa

Orientador- Departamento de Med. Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. Geraldo Jorge Barbosa de Moura

Departamento de Biologia da UFRPE

Prof. Dr. Márcio André da Silva

Parque Estadual Dois Irmãos, Recife/PE

Prof. Dr. Cleyton Charles Dantas Carvalho

Departamento de Med. Veterinária da UFRPE

DEDICATÓRIA

A Deus, pelo dom da vida, pela provisão diária, pela saúde e por permitir a realização dos meus sonhos.

Aos meus pais, Floriano Pereira Nunes (*in memorian*) e Maria Carmelita Queiroz de Souza (*in memorian*) pelo amor e carinho e incentivo nos estudos.

A minha vó, Arcelina Maria Queiroz de Souza (*in memorian*) pela educação e por sempre ter me levado à igreja.

A minha tia, Maria Ângela Queiroz de Souza, pelo amor, apoio, pelos ensinamentos e incentivo na área espiritual e por ter cuidado de mim durante todos esses anos, sempre me alertando quanto às horas de sono e incentivando a ir aos cultos.

A minha namorada, Marília Rafaela Pereira da Cruz pelo amor, carinho, atenção e apoio e compreensão nos momentos em que me isolei da civilização pra escrever a dissertação. Мрoһf ef xрdf nf tјouр тр... 🎵🎵🎵. Я тебя люблю.

A minha família (tios, tias, primos e primas) pelo carinho e pelos momentos de recreação e aprendizado informal, que recebemos diariamente, sem necessariamente ter ido à escola.

Ao meu amigo André Peter, Agnes Peter e toda família Peter, pelo carinho, apoio e incentivo nos estudos.

Confesso que sem vocês eu não conseguiria chegar ao menos na metade do caminho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu autointitulado fantástico orientador, professor Fabiano Séllos Costa pela amizade, paciência, incentivo e orientação durante esses anos e anos e anos e anos de estágio mestrado. Adicionalmente, gostaria de dizer que sou muito grato pela sua orientação, meu amigo, professor e fantástico orientador, que sempre diz que vai provar que não é apenas um rostinho bonito.

Aos membros da banca, Prof^a Dr^a. Luciana Rameh-de-Albuquerque, pela atenção e paciência nos momentos em que eu estava aprendendo a contar células de répteis e a cada minuto a chamava para tirar dúvidas, ao Prof. Dr. Cleyton Dantas por ter sido tão prestativo em tirar minhas dúvidas, ao Prof. Dr. Geraldo Moura, pela atenção e incentivo para o término dessa etapa da minha vida e a Prof^a Dr^a Maria Cristina por ter acompanhado a minha trajetória na UFRPE, desde a época que me orientou no Trabalho de Conclusão de Curso.

Aos veterinários Denisson, Daniel, Ieverton e Lorena pelo apoio e incentivo, ajudando na coleta de sangue, na biometria e tomografia, bem como incentivando a terminar o mestrado. Ao biólogo Alex Zanotti, pela ajuda e pelos momentos de descontração herpetológica. Ao zootecnista Rodrigo, pelas informações quanto à nutrição dos animais.

Aos tratadores do zoológico (Wágner, Josemar, Adriano, Vando, Carlos, André, Gerlânio, Adriano e a equipe do setor da nutrição) pelo auxílio na contenção dos animais e pelas conversas e aos demais funcionários do zoo (Lessa e Gilvan) pela ajuda no transporte dos animais e acompanhamento da pesquisa no zoológico. A Nichelle e Fernanda pelas conversas nos intervalos entre as contagens das células.

As meninas da patologia clínica, Jessica, Mirna, Rebeca e as Sheilas, por tirarem as minhas dúvidas na fase de apresentação de projetos e na dissertação, me auxiliando nas horas que eu estava sem saber como analisar meus dados.

Ao estatístico, professor Edmilson Mazza, pelo auxílio e orientação quanto aos cálculos estatísticos, bem como ter sido prestativo, orientando toda hora que eu precisasse tirar alguma dúvida.

A minha amiga Jéssika Silveria, Marcelo Meireles e a todos os demais amigos da UFRPE, UFPE e da igreja, pelo companheirismo e risadas e por terem torcido por mim, pois

sempre me perguntavam como estava indo o mestrado e quando seria defesa e com isso, me incentivavam a terminar. Eu sempre dizia o mês, mas não sabia qual seria o ano.

Ao coordenador da Pós Graduação em Ciências Veterinárias, o professor Fábio, a professora Jacinta Brito, Leucio Câmara, Paulo Lima, Maria Cristina, Grazielle Aleixo, Lilian, Ariosto Afonso, Jean Carlos, Raquel Querino (*in memoriam*) e todos os demais professores, porque colaboraram em cada etapa, onde pude unir os seus ensinamentos e prosseguir na vida acadêmica.

A todos os funcionários do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE.

A toda equipe do laboratório de Patologia Clínica da *Focus* diagnóstico, pela realização da análise bioquímica das amostras obtidas.

A todos meus fiéis compradores de cosméticos, cupcakes, bolos, bolsas para celulares e panetones, que sem dúvida me ajudaram bastante durante essa fase da minha vida.

Aos animais que participaram da pesquisa, cedendo “gentilmente” amostras de sangue, porque sem eles não haveriam amostras, e dessa forma não poderia ser analisados os parâmetros hematológicos e bioquímicos da espécie.

A CAPES pelo financiamento da pesquisa e possibilitado que a mesma fosse realizada.



Resumo

Parâmetros bioquímicos e hematológicos de Testudines são escassos na literatura. A elaboração da presente dissertação teve por objetivo descrever todas as etapas e procedimentos que foram realizados com seis espécies de testudínes, das espécies de cágado-de-barbicha (*Phrynops geoffroanus*), tartaruga-da-amazônia (*Podocnemys expansa*), cágado-do-Nordeste (*Mesoclemmys tuberculata*), jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*), tracajá (*Podocnemis unifilis*), tigre-d'água (*Trachemys dorbigni*) do Zoológico do Parque Estadual Dois Irmãos, Recife-PE. Foram utilizados dez animais de cada espécie, em que os animais clinicamente hígidos passaram pela biometria e pela punção da veia coccígea dorsal, de onde foram obtidas amostras de sangue utilizando-se Heparina Sódica, para avaliação hematológica (eritograma e leucograma). Para a avaliação da bioquímica sérica, foram analisados Alanino aminotransferase (ALT), Fosfatase alcalina (FALCA), Gamaglutamiltransferase (GGT), Cálcio, Magnésio, Fósforo e Proteínas Totais, os quais foram determinados através de analisador bioquímico semiautomático com uso de kit de reagentes comerciais da Dolles®. Foi utilizada a Heparina de Sódio como anticoagulante, porém os esfregaços foram realizados a fresco. No hemograma e na bioquímica sérica, foram observadas diferenças estatisticamente significativas em relação aos dados da literatura, em que tais variações possivelmente ocorrem devido às diferenças entre as espécies, ou quanto aos métodos de coleta, sazonalidade, sexo dos animais e tipo de anticoagulante utilizado, quando os animais comparados eram da mesma espécie. Através da realização da análise hematológica e também análise da bioquímica sanguínea destas espécies, pôde-se sugerir valores de normalidade para as espécies em estudo quando em cativeiro, favorecendo a interpretação de hemogramas obtidos de animais destas espécies em cativeiro, que ainda é bastante controversa.

Palavras-chave- Animais silvestres, leucograma, eritograma, jabutis, cágados

Biochemical and hematological parameters of Testudines are scarce in the literature. The purpose of this dissertation was to describe all the stages and procedures that were carried out with six species of testudines, of the species of Geoffroy's side-necked turtle (*Phrynops geoffroanus*), Giant south American river turtle (*Podocnemys expansa*), Tuberculate toadhead turtle (*Mesoclemmys tuberculata*), Red-footed tortoise (*Chelonoidis carbonaria*), yellow-spotted amazon river turtle (*Podocnemis unifilis*), Black-bellied slider (*Trachemys dorbigni*) of the Dois Irmãos State Park Zoo, Recife-PE. Ten animals of each species were used, in which the clinically healthy animals underwent biometry and dorsal coccygeal vein puncture, from which blood samples were obtained for hematological evaluation (erythrogram and leukogram), which were Total Red Blood Cell Count, Hemoglobin, Hematocrit (obtained by the microhematocrit method), hematimetric indexes (VCM, HCM and CHCM), Total Plasma Proteins (obtained by refractometry) and Differential Leukocyte Count, besides serum biochemical parameters, which included liver enzyme dosage (ALT, ALP and GGT), Calcium, Magnesium, Phosphorus and Total Proteins, which were obtained by semiautomatic biochemical counter with the use of commercial reagent kit. Sodium Heparin was used as an anticoagulant, however the smears were fresh. In the hemogram and serum biochemistry, statistically significant differences were observed in relation to the literature data, where such variations possibly occur due to the differences between the species, or the methods of collection, seasonality, sex of the animals and type of anticoagulant used, when the animals compared were of the same species. Through the hematological analysis and also the blood biochemistry analysis of these species, it was possible to suggest normal values for the species under study in captivity, favoring the interpretation of hemograms obtained from animals of these species in captivity, which is still quite controversial.

Keywords- Wild animals, leukogram, erythrogram, tortoises, freshwater turtles

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1-	Relação filogenética da ordem Testudines (GOULART, 2004).....	15
Figura 2	<i>Podocnemis expansa</i> (A) e sua distribuição na América do Sul (B). Fonte: ICMBIO.....	16
Figura 3-	<i>Trachemys dorbigni</i> (A) e sua distribuição na América do Sul (B). Fonte: ICMBIO.....	17
Figura 4-	<i>Podocnemis unifilis</i> (A) e sua distribuição na América do Sul (B). Fonte: ICMBIO.....	17
Figura 5-	<i>Mesoclemmys tuberculata</i> (A) e sua distribuição na América do Sul (B). Fonte: ICMBIO.....	18
Figura 6-	<i>Phrynops geoffroanus</i> (A) e sua distribuição na América do Sul (B). Fonte: ICMBIO.....	19
Figura 7-	<i>Chelonoidis carbonaria</i> (A) e sua distribuição na América do Sul (B). Fonte: ICMBIO.....	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Values of hemogram and serum biochemistry of <i>Chelonoidis carbonaria</i> adults kept in captivity at the Zoo Parque estadual Dois irmãos, Pernambuco, Brazil.....	41
------------------	---	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALB- Albumina

ALT- Alanino aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

Ca- Cálcio

Cte – Contagem total de eritrócitos

EDTA – Ácido Etilenodiaminotetracético

GGT – Gama glutamiltransferase

Kg - quilograma

LDH- Lactato desidrogenase

mEq/L – Mili equivalente por litro

Mg- Magnésio

P - Fósforo

PT – Proteína total

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	13
2.	OBJETIVOS.....	14
2.1	Objetivos Gerais.....	14
2.2	Objetivos Específicos.....	14
3.	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1	Os Testudines.....	15
3.2	O Hemograma.....	20
3.2.1	Células sanguíneas.....	21
3.2.2	Eritrograma.....	24
3.2.3	Leucograma.....	26
3.3	Bioquímica Sérica.....	28
3.3.1	Dosagem de íons e Proteínas Totais.....	29
3.3.2	Dosagem de enzimas hepáticas.....	32
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
	ARTIGO	37
	ANEXOS.....	52
	APÊNDICE.....	55

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A área de pesquisa com animais silvestres é bastante desafiadora, inclusive no que tange a clínica veterinária, pois existe certa dificuldade para o clínico na realização da exploração física, assim como na execução de um exame clínico adequado nestas espécies animais, em consequência de particularidades anatômicas e comportamentais (SANTOS et al., 2005). Esta dificuldade encontrada para a exploração física e para a execução de um exame clínico adequado nestas espécies animais faz com que as informações obtidas sejam mínimas e na maioria das vezes inadequadas para a realização de um diagnóstico, levando o clínico a utilizar-se de métodos ou exames complementares para auxiliá-lo (MUNDIM et al., 1999).

O laboratório clínico tem estado presente na clínica de pacientes humanos e vem sendo cada dia mais utilizado em animais domésticos auxiliando na prevenção, diagnóstico e controle de doenças. Na medicina de animais selvagens, os exames laboratoriais já podem ser considerados como ferramentas para diagnosticar e prevenir doenças e até mesmo como biomarcadores de agressões ambientais, uma vez que a sanidade do meio ambiente influencia na vida dos seres que interagem com esse (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007).

Em relação aos valores sanguíneos e bioquímicos de répteis, ocorrem muitas limitações, pois os mesmos possuem variações nos parâmetros sanguíneos em relação à idade, sexo, tamanho, saúde, dieta, sazonalidade, habitat, dificultando bastante o estabelecimento de valores de referência, bem como comparações entre indivíduos e populações, tornando de grande necessidade o estabelecimento de padrões para diversas espécies, possibilitando uma avaliação do estado de saúde e níveis de estresse destes animais, tanto de vida livre, como de cativeiro (CAMPBELL, 2006; THRALL et al., 2007). Com isso, percebe-se a necessidade da realização de pesquisas na área de hematologia e bioquímica sérica de répteis, que indubitavelmente há de contribuir para o diagnóstico de enfermidades através do estabelecimento dos níveis de referência para cada espécie.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

- Estabelecimento de perfil hematológico para seis espécies de testudines brasileiros mantidos em cativeiro, sendo eles, cágado-de-barbicha (*Phrynops geoffroanus*), tartaruga-da-amazônia (*Podocnemys expansa*), cágado-do-Nordeste (*Mesoclemmys tuberculata*), jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*), tracajá (*Podocnemis unifilis*) e tigre d'água (*Trachemys dorbigni*).

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar valores de eritrograma.
- Determinar valores de Contagem Diferencial de Leucócitos.
- Determinar valores bioquímicos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

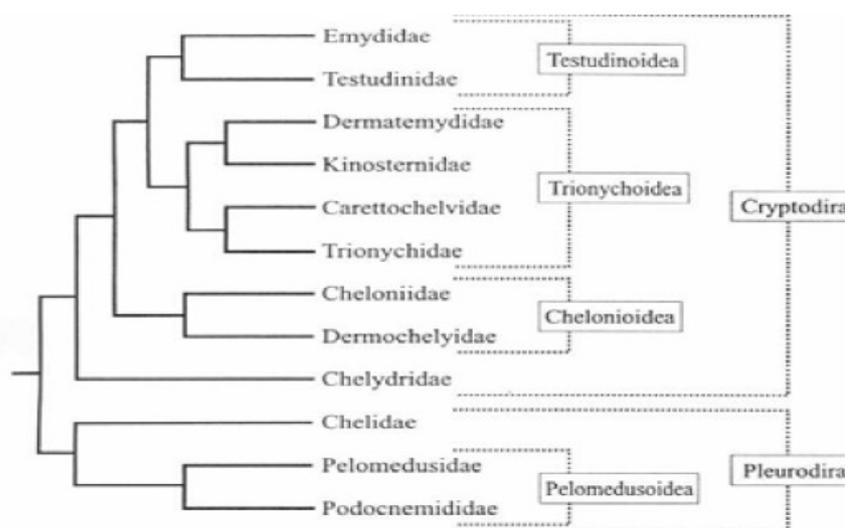
3.1 Os Testudines

Os testudines incluem tartarugas, cágados e jabutis. Seu metabolismo também é muito mais lento que o dos demais répteis. Todos os testudines são ovíparos, depositando seus ovos em buracos no solo, depois de cobertos com areia e abandonados para que sejam incubados eventualmente no calor do sol. Os filhotes sofrem a influência da temperatura durante o período de incubação na determinação de seu futuro sexo. Sua expectativa de vida é extremamente longa, principalmente em jabutis e nas tartarugas (OLIVEIRA, 2003).

Aproximadamente 20% das 278 espécies de testudines do mundo ocorrem na América do Sul, representando oito famílias (Dermochelyidae, Cheloniidae, Chelydridae, Emydidae, Kinosternidae, Testudinidae, Podocnemididae e Chelidae). Dessas, a família Chelidae, cujos representantes típicos são conhecidos como cágados, é a mais rica, contando com 23 espécies, das quais 19 ocorrem no Brasil (SOUZA, 2004).

A relação filogenética das espécies de testudines está contida na figura abaixo (figura 1).

Figura 1. Relação filogenética da ordem Testudines (GOULART, 2004).

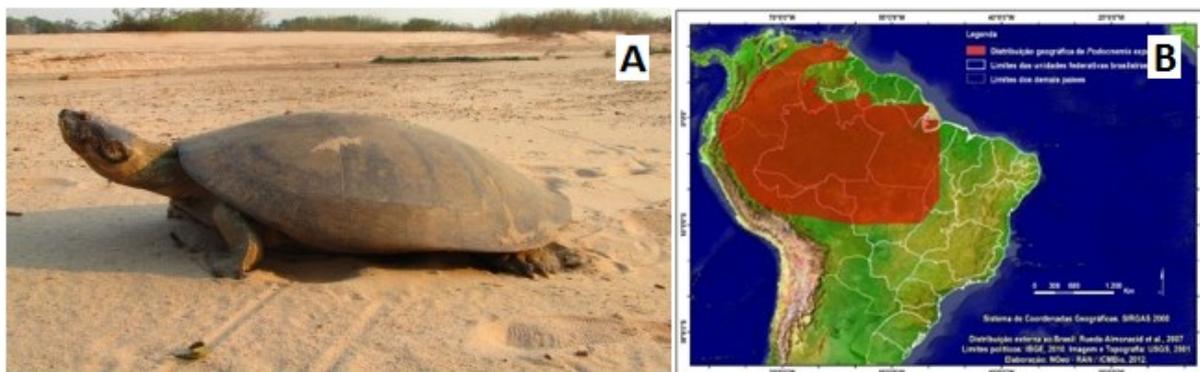


Os cágados, de modo genérico, são os testudines de água doce ou salobra, embora só entrem na água para caçar peixes e anfíbios (quando não o fazem, repousam nas margens das

coleções de água). A expectativa de vida é de 30-50 anos, embora raramente cheguem a tanto em cativeiro (OLIVEIRA, 2003).

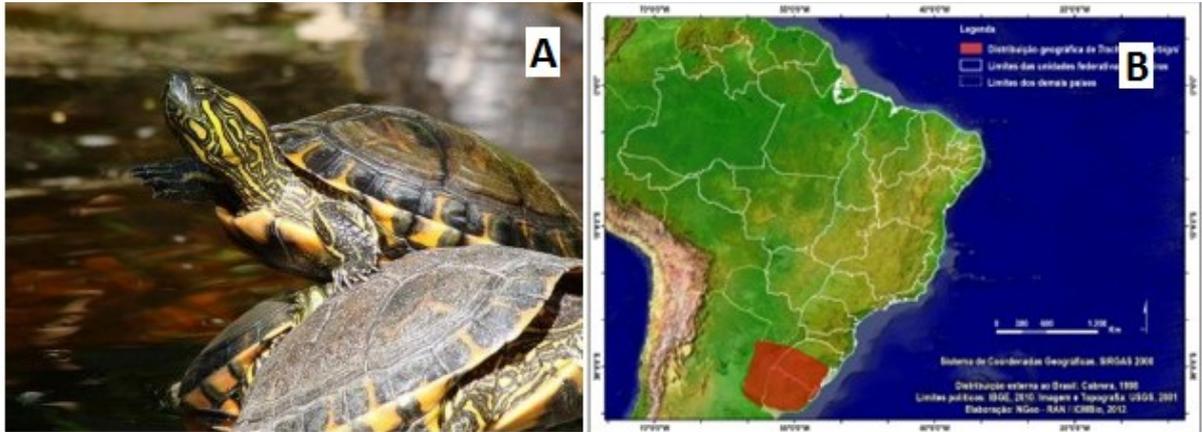
Dentre os cágados brasileiros, tem-se a tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa* - Schweigger, 1812), a qual habita na América do Sul, nas bacias dos rios Amazonas, Orinoco e Essequibo (OLIVEIRA, 2003). No Brasil, habita nas bacias dos rios Amazonas, Araguaia, Tocantins e Branco (IBAMA, 2007). Esta espécie de hábitos aquáticos possui dimensões que vão de 85 cm a 1 m de comprimento e 45 a 70 kg de peso, sendo o maior quelônio de água doce da América do Sul e um dos maiores do mundo. Sua carapaça possui uma coloração verde-oliva acinzentada e seu plastrão uma coloração amarelada. Sua alimentação é à base de frutas e a sua maturação sexual se dá entre 7 a 8 anos de idade (OLIVEIRA, 2003, FREITAS e SILVA, 2007). De acordo com o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA, 2017), sua reprodução varia conforme a localidade, mas sabe-se que no Brasil, desova nos meses de agosto a dezembro, desovando entre 40 e 160 ovos.

Figura 2. *Podocnemis expansa* (A) e sua distribuição na América do Sul (B). Fonte: ICMBIO.



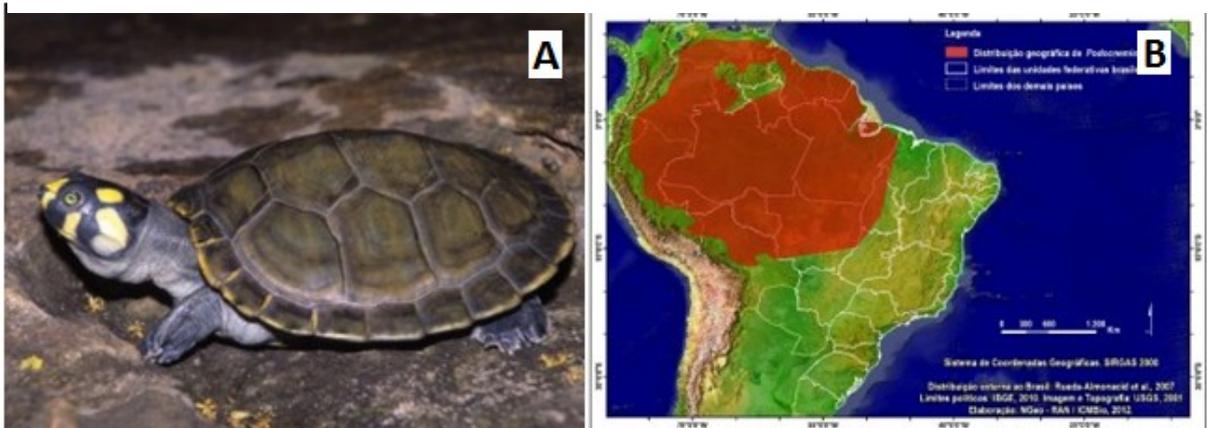
O tigre-d'água (*Trachemys dorbigni* - Duméril e Bribon, 1835) é originário do Sul do Brasil, norte da Argentina, Uruguai e Paraguai. Apresenta carapaça, cabeça e membros com desenho de coloração verde, amarelo e preto. Embora pequeno, possui um comportamento agressivo, com a incubação dos ovos levando dez semanas. É o cágado mais vendido, muitas vezes ilegalmente em feiras livres (OLIVEIRA, 2003).

Figura 3 *Trachemys dorbigni* (A) e sua distribuição na América do Sul (B). Fonte: ICMBIO.



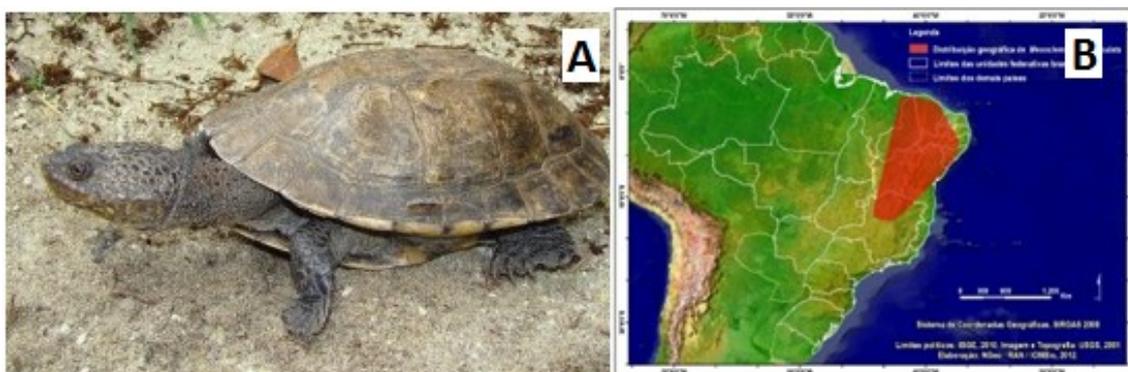
Os tracajás (*Podocnemis unifilis* - Troschel, 1848) possuem dimensões de até 20 cm de comprimento e uma pele escura, com marcas de coloração amarelo-viva na face. Sua alimentação é à base de pequenos vertebrados e peixes, além do zoo e fitoplâncton do rio, os quais captura nadando com a boca aberta na superfície da água e expelindo a água pelas narinas (OLIVEIRA, 2003). De acordo com o IBAMA (2017), os tracajás possuem ampla distribuição geográfica, ocorrendo em rios das regiões norte e centro-oeste do Brasil, Bolívia, Colômbia, Peru, Venezuela e Guianas. O período de nidificação varia conforme a localidade. No Brasil, ocorre de junho a outubro, podendo desovar entre 20 e 40 ovos. Pode alcançar mais de 60 cm de comprimento, e pesar cerca de 9,0 kg.

Figura 4 *Podocnemis unifilis* (A) e sua distribuição na América do Sul (B). Fonte: ICMBIO.



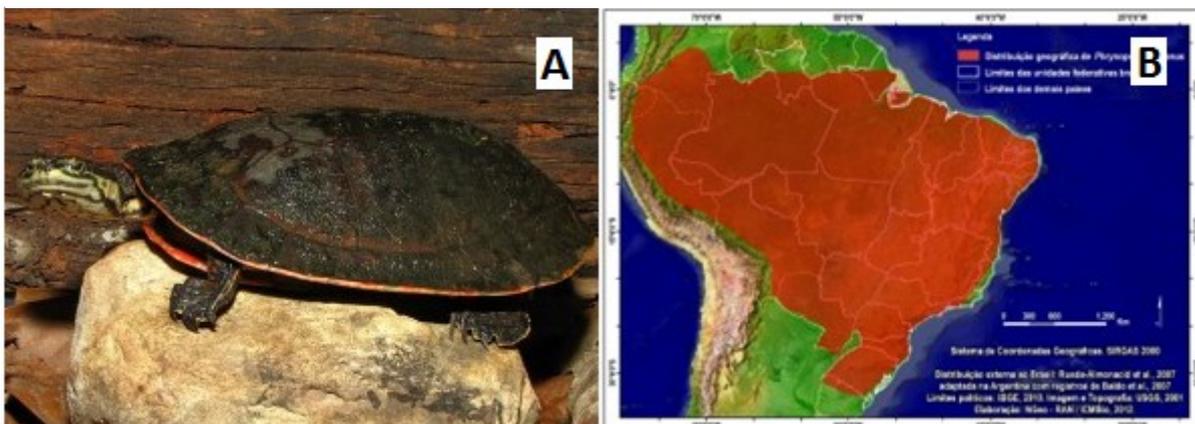
Sobre os cágados-do-Nordeste (*Mesoclemmys tuberculata* - Lüderwaldt, 1926), Santana et al. (2015) declaram que há poucas informações sobre a biologia desta espécie, com a maior parte das informações obtidas de animais em cativeiro. Esta espécie é endêmica do Brasil, ocorrendo ao longo da bacia do rio São Francisco, em áreas de cerrado e caatinga, nos estados de Minas Gerais, Bahia, Alagoas, Piauí e Maranhão. Sua extensão de ocorrência calculada é de 1.079.735,10 km². Nos Estados do Maranhão e Piauí, em áreas de restinga, é utilizado o manejo de fogo para a renovação de pastagens naturais, afetando as áreas de repouso e nidificação dessas subpopulações. No entanto, não há evidências de ameaças que possam afetar a população ao ponto de colocá-la em risco de extinção. Por essas razões, *Mesoclemmys tuberculata* foi categorizada como menos preocupante na lista do ICMBIO (VOGT et al., 2010). Os indivíduos desta espécie atingem cerca de 35 cm de comprimento total, e embora de hábitos aquáticos, podem ser encontrados no meio da vegetação arbórea (FREITAS e SILVA, 2007).

Figura 5. *Mesoclemmys tuberculata* (A) e sua distribuição na América do Sul (B). Fonte: ICMBIO.



O cágado-de-barbicha (*Phrynops geoffroanus*- Schweigger, 1812) é uma das espécies mais comuns do Brasil, e uma das maiores do gênero, medindo até 35 cm, com pescoço bastante longo, que é recolhido lateralmente, além da presença de barbilhões na região gular, que identificam a espécie. Possuem dieta carnívora na natureza, alimentando-se de peixes e pequenos animais. Habitam as bacias dos rios Paraná, Amazonas e São Francisco, vivendo em habitat aquático, e pesando de 0,6 a 4,0 kg (CUBAS e BAPTISTOTTE, 2007).

Figura 6. *Phrynops Geoffroanus* (A) e sua distribuição na América do Sul (B). Fonte: ICMBIO.



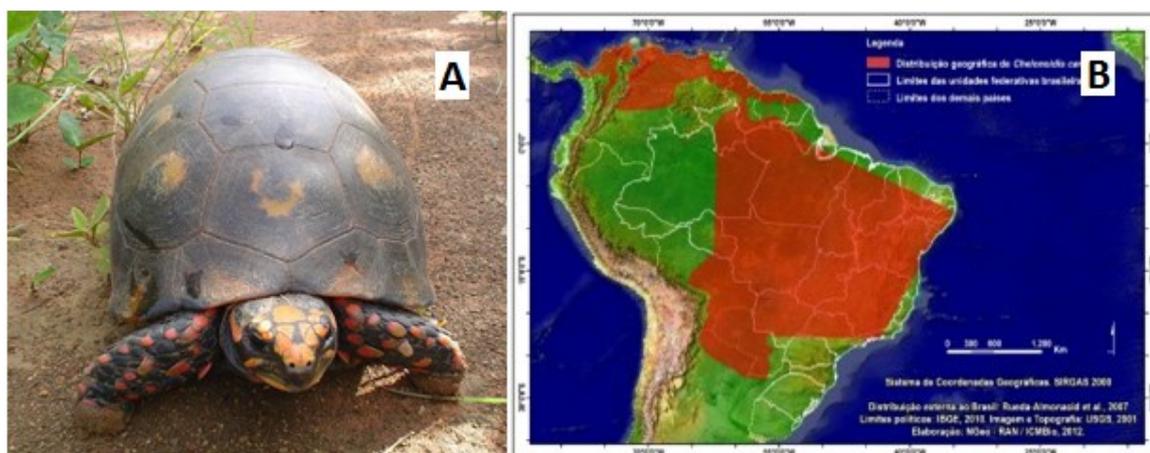
Os jabutis, por sua vez, são os testudines mais adaptados ao habitat terrestre. Em sua maior parte são herbívoros e bebem bastante água, embora sejam resistentes a desidratação. A expectativa de vida é bastante longa, como por exemplo, as tartarugas-das-galápagos, que podem chegar a viver 200 anos (OLIVEIRA, 2003).

O gênero *Chelonoidis* (Fitzinger, 1835) é atualmente composto por quatro espécies distintas, encontradas na América do Sul, que são *Chelonoidis carbonaria*, *C. chilensis*, *C. denticulata* e *C. nigra* (SILVA et al., 2011).

Dentre as espécies de jabutis deste gênero, encontram-se os jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria* - Spix, 1824), distribuídos amplamente nas planícies da América do Sul, ocorrendo na Guiana, Venezuela, Bolívia, Colômbia, Paraguai, Brasil e Argentina e na América Central ocorre no Panamá, Antilhas e Ilha de Trinidad, estando amplamente distribuídos nas florestas mais secas e pastagens, sendo tais áreas relativamente quentes e secas na maior parte do ano. Estes animais vivem em torno de 80 a 100 anos de idade, possuindo uma dieta onívora na natureza. Possuem em torno de 22 cm de carapaça, pesando em torno de 6,0 a 12 kg, possuindo uma coloração uniformemente marrom-amarelada. A fêmea é nitidamente maior que o macho, a qual não tem a concavidade do plastrão acentuada. Embora não listada como ameaçada pela International Union of Conservation Nature (IUCN, 2016), está sob considerável pressão, tendo em vista o seu declínio em algumas áreas. No Brasil, ocorre nos biomas da Amazônia, Cerrado, Pantanal, Caatinga e Mata Atlântica, nos estados do Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima, Maranhão, Piauí, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás. Sua extensão de ocorrência calculada no

país é de 5.750.511,31 km² e essa espécie é comumente encontrada nos estados que ocupa. Embora sejam intensamente utilizadas ilegalmente como animal de estimação e para alimentação humana, essas atividades parece não afetar significativamente sua população no país (SWINGLAND e KLEMENS, 1989; VOGT et al., 2010; MUNDIM et al., 1999).

Figura 7- *Chelonoidis carbonaria* (A) e sua distribuição na América do Sul (B). Fonte: ICMBIO.



3.2 O Hemograma

Um dos exames diagnósticos mais utilizados é o hemograma, que conforme Almosny e Monteiro (2007) é o principal exame de triagem e por isso deve ser o primeiro a ser solicitado, visando elucidar uma suspeita clínica e direcionar os outros exames complementares. Este exame, por sua vez, é dividido em dois grupos de exames, que são o eritrograma onde são avaliados os eritrócitos sanguíneos e o leucograma que analisa os leucócitos. Este último, de acordo com Thrall et al. (2007), abrange as contagens total e diferencial de leucócitos e o exame morfológico dos leucócitos em esfregaço sanguíneo corado.

O hemograma pode ser influenciado por vários fatores, como espécie, idade, sexo, habitat, dieta, estado de saúde, reprodução, níveis de estresse, local de venopunção, sazonalidade, hibernação, estado de cativeiro, coloração dos esfregaços, técnicas de avaliação, bem como fatores ambientais, os quais podem influenciar nos resultados do hemograma dos répteis, alterando a morfologia celular e concentração de células sanguíneas no sangue periférico e, por conseguinte, afetando os valores do hemograma e a apresentação das células na visualização (STACY et al., 2011; SYKES e KLAPHAKE, 2008).

Em pesquisa realizada por Lopes-Olvera et al. (2003) com testudines da espécie *Testudo marginata*, foi comparada a diferença entre os locais de colheita sanguínea nos exames hematológicos, em que amostras de sangue foram colhidas da veia coccígea dorsal e da veia braquial. Os autores observaram diferenças significativas entre os dois métodos, em relação à contagem de eritrócitos, hematócrito e concentração de hemoglobina.

Para a avaliação morfológica das células, bem como a contagem diferencial, deve-se fazer o esfregaço, que segundo Almosny e Monteiro (2007, p. 942), “o esfregaço sanguíneo é o primeiro passo para um hemograma bem realizado, por meio desse, são visualizadas alterações morfológicas em células sanguíneas e a presença de hemoparasitas”. É recomendado que o mesmo seja realizado no momento da coleta para que danos causados por anticoagulante não se confundam com alterações hematológicas (ALMOSNY, 2014).

Sobre o uso dos anticoagulantes, Muro et al. (1998), após a realização de estudos com *Testudo hermanni*, em que compararam a heparina de lítio com EDTA k3, verificaram que o EDTA não deve ser indicado como anticoagulante de testudines, tendo em vista causar diminuição do hematócrito e na contagem de eritrócitos, devido a sua tendência em causar hemólise e não favorecer a confecção de um bom esfregaço para a contagem diferencial. Campbell (2006) também cita o efeito de lise que o EDTA provoca nas células, principalmente dos quelônios e com isso, o mesmo autor recomenda o uso de heparina de lítio como anticoagulante, sendo que as amostras devem ser processadas imediatamente, para reduzir seus efeitos nas células. Por fim, Oliveira (2003) cita que embora deva ser usada preferencialmente a heparina de lítio, também podem ser usadas a heparina de sódio ou a heparina de amônio.

3.2.1 Células Sanguíneas

As células sanguíneas presentes no sangue periférico de testudines consistem de eritrócitos, leucócitos e trombócitos. Os leucócitos podem ser subdivididos em granulócitos, que incluem heterófilos, eosinófilos e basófilos, e os agranulócitos, que incluem linfócitos e monócitos. Ambos, heterófilos e eosinófilos apresentam grânulos acidófilos, enquanto os basófilos apresentam grânulos basofílicos no citoplasma (ZHANG et al., 2011).

Os eritrócitos possuem formato biconvexo (achatados, ao invés de bicôncavos, que ocorre como nos mamíferos), ovais e com presença de núcleo, o que gera dificuldades nas

contagens celulares com hemocítomos automáticos, pois gera erros na distinção com os leucócitos (OLIVEIRA, 2003).

Os trombócitos de répteis se apresentam como células nucleadas elípticas e fusiformes. O núcleo central apresenta densa cromatina de coloração púrpura; o citoplasma geralmente é descorado e pode conter alguns grânulos azurofílicos. Trombócitos ativados são comuns e surgem na forma de agregados de células com vacúolos e margens citoplasmáticas irregulares. Quando estão agregados, parecem destituídos de citoplasma (THRALL et al., 2007). Segundo Ferronato (2008), devido a diferenças na metodologia de contagem dos trombócitos, torna-se difícil fazer uma comparação entre os dados obtido com os da literatura.

Com base em sua aparência no esfregaço sanguíneo corado com corantes do tipo Romanowsky, os granulócitos de répteis podem ser classificados em dois grupos: acidófilos e basófilos. Os acidófilos são classificados em heterófilos e eosinófilos, onde os heterófilos de répteis geralmente são células arredondadas, com grânulos citoplasmáticos eosinofílicos. O núcleo de heterófilos maduros costuma ser excêntrico, redondo ou oval, com denso aglomerado de cromatina nuclear (THRALL, 2007).

Os eosinófilos, na maioria dos esfregaços de répteis, aparecem como grandes células redondas, com grânulos citoplasmáticos eosinofílicos esféricos (THRALL, 2007). Quanto a sua elevação, Roskopf (1982) afirma que a eosinofilia é comum em casos de parasitismo, em que após a eliminação dos parasitas, seu número retorna a zero.

Os Heterófilos, por sua vez, recebem este nome, devido à presença de proeminentes grânulos citoplasmáticos de aspecto brilhante e coloração róseo-alaranjada, sendo o equivalente dos neutrófilos em mamíferos (STACY et al., 2011). Os mesmos podem apresentar um aspecto anormal em répteis acometidos por várias doenças. Por exemplo, eles podem exibir graus variáveis de toxicidade em doenças inflamatórias, principalmente quando associadas a microrganismos infecciosos, como bactérias. Sua degranulação pode ser provocada por artefatos originados durante a preparação do esfregaço sanguíneo ou por alterações tóxicas (THRALL et al., 2007). Alguns pesquisadores também citam os neutrófilos como presentes em répteis, como Zago et al., (2010), que os descreve como células apresentando um núcleo basofílico e não segmentado, semelhante aos dos mamíferos, o qual relata que também foram observadas cadeias fibrilares e granulação basofílicas, eosinofílicas e azurofílicas em seu citoplasma. Contudo ambas serão consideradas como o mesmo tipo celular no presente trabalho.

O basófilo, em mamíferos, tem núcleo volumoso, com forma retorcida e irregular, geralmente com o aspecto da letra S. O citoplasma é carregado de grânulos maiores do que os dos outros granulócitos, os quais muitas vezes obscurecem o núcleo. Os basófilos constituem menos de 1% dos leucócitos do sangue, e, por isso, são difíceis de encontrar nos esfregaços (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004). Em répteis, os basófilos se caracterizam por possuírem grânulos esféricos ou em forma de bastonete, que se coram intensamente de cor azul-escura (OLIVEIRA, 2003). Em trabalho realizado por MEAD et al. (1983) com tartarugas mordedoras (*Chelydra serpentina*), foi demonstrado o potencial imunológico dos basófilos, em que ficou evidenciado que estas células possuem sítios de ligação para imunoglobulinas e na presença de antígenos degranulam, liberando histamina.

Roskopf (1982) declara que os heterófilos e basófilos são responsivos durante a inflamação, em que o número de heterófilos aumenta e em seguida, quando a inflamação se torna crônica, o número de basófilos se torna elevado.

Quanto aos monócitos, Oliveira (2003) declara que em répteis, estas células possuem um único núcleo e com reentrâncias, sendo maiores que os linfócitos. O seu citoplasma também é finamente granuloso e se cora de azul-claro a cinza-azulado.

Quanto aos azurófilos, Rameh-de-Albuquerque (2007), em pesquisa realizada com serpentes afirma que estas células foram o segundo tipo de leucócito mais observado, apresentando-se redondas e com o citoplasma contendo numerosos grânulos azurofílicos e algumas vezes possuíam uma aparência monocitóide. Tratava-se de uma variação leucocitária que possuía muitas variações morfológicas. Com relação ao núcleo, este se apresenta centralizado ou levemente excêntrico.

É comum encontrar divergências dos autores quanto à possibilidade de monócitos e azurófilos serem o mesmo tipo celular. No entanto, ALMOSNY (2014) cita que alguns trabalhos demonstram atuação decisiva dos azurófilos - monócitos em processos infecciosos de serpentes, com atividade compatível com monócitos. No presente trabalho, monócitos e azurófilos são considerados como o mesmo tipo celular.

Os linfócitos de serpentes, lacertílios e testudines são células redondas que apresentam irregularidades quando se moldam às células adjacentes no esfregaço sanguíneo ou quando se dobram. Têm núcleo central ou ligeiramente excêntrico, redondo ou com discreta indentação; nos linfócitos maduros, a cromatina nuclear encontra-se densamente agregada. É comum os

linfócitos apresentarem alta proporção núcleo: citoplasma. O linfócito pequeno maduro típico tem citoplasma escasso ligeiramente basofílico (azul-claro). Os grandes linfócitos têm maior volume citoplasmático, em comparação com os linfócitos pequenos e o núcleo normalmente é claro. O citoplasma de um linfócito normal tem aspecto homogêneo e carece de vacúolos e grânulos (THRALL et al., 2007).

A função dos linfócitos de répteis é semelhante à de linfócitos de aves e mamíferos. Essas células apresentam as mesmas classes de linfócitos principais: linfócitos B e linfócitos T, implicados em várias funções imunológicas. Contudo, ao contrário do que acontece com aves e mamíferos, a resposta imunológica de répteis é muito influenciada pelo ambiente. Por exemplo, baixas temperaturas podem suprimir, ou mesmo inibir a sua resposta imune (THRALL et al., 2007). Nos animais em período de hibernação, a linfopoiese parece cessar e as populações de linfócitos localizadas nos tecidos não são renovadas, promovendo um declínio no número de linfócitos. Tal fato pode explicar a ausência de resposta imune durante a hibernação (WRIGHT e COOPER, 1981).

3.2.2. Eritrograma

A avaliação laboratorial dos eritrócitos envolve a determinação hematócrito, da contagem total de eritrócitos e do teor de hemoglobina (Hb) no sangue. O hematócrito é obtido pelo método do micro-hematócrito ou em contador de células eletrônico ajustado adequadamente para cada espécie, devido às diferenças no tamanho dos eritrócitos. Em répteis, porém, o método do micro-hematócrito é mais prático e confiável (THRALL et al., 2007).

A contagem total de eritrócitos pode ser determinada em contador manual ou eletrônico. Dois métodos manuais são muito utilizados para contagem total de eritrócitos de sangue de répteis, que são o sistema Unopette® e o método de Natt-Herrick. No método Natt-Herrick, o sangue é aspirado até a marca 0,5 da pipeta, e a solução de Natt-Herrick é aspirada até a marca 101, de modo a propiciar uma diluição de 1: 200. Em ambos os métodos, a câmara de contagem do hemocitômetro é preenchida com o sangue diluído, deixando-se em repouso, por no mínimo, 5 minutos antes da contagem (THRALL et al., 2007).

Em trabalho realizado por Lawrence e Hawkey (1986) com tartaruga grega (*Testudo graeca*) e tartaruga de Hermann (*Testudo hermanni*), os autores descrevem a fórmula usada por Natt Herrick (1952) em aves, que é 3,88 g de cloreto de sódio, 2,50 g de sulfato de sódio,

2,9 g de fosfato sódico de hidrogênio, 0,25 g de fosfato potássico de hidrogênio, formalina 40% e 10 mL de diluente.

O Hematócrito por sua vez, corresponde à porcentagem de eritrócitos presentes no sangue, sendo calculado a partir de uma coluna de sangue na qual a sua centrifugação promove compactação máxima das hemácias. Seu valor é determinado em um aparelho de leitura, como o cartão de leitura para micro-hematócrito (THRALL et al., 2007).

A medição do conteúdo de hemoglobina por unidade de volume é expressa em g/dL. A interpretação dos seus valores é semelhante a do hematócrito. Ela representa um indicador da concentração de hemácias por unidade de volume de sangue do paciente. No entanto, como é quase equivalente ao hematócrito, esse teste não é muito útil para interpretação clínica (THRALL et al., 2007).

Os parâmetros hematológicos podem variar conforme a espécie, gênero, idade, sazonalidade, contudo sua elevação geralmente está relacionada com desidratação, embora nos casos de doença hepática crônica, a anemia possa ser evidente, causando sério déficit fluídico (DUTRA, 2014).

Gottdenker e Jacobson (1995) em estudos com Tartarugas do deserto (*Gopherus agassizii*) compararam coletas realizadas na veia jugular com colheitas realizadas no plexo venoso pós-occipital, onde foram observadas diferenças significativas entre os valores de hematócrito, contagem de eritrócito, contagem de leucócitos heterofilos, monócitos e hemoglobina. O autor atribui este fato a hemodiluição pelos fluidos extravasculares na colheita da região pós-occipital.

Conforme Pires et al. (2006), a partir da obtenção dos valores das variáveis do eritrograma, pode-se estabelecer matematicamente os índices hematimétricos Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), expressos em fentolitros (fl), picogramas (pg) e porcentagem (%), respectivamente.

Quanto ao VCM, á medida que os eritrócitos são contados, sua distribuição por tamanho é simultaneamente traçada, e assim este parâmetro é facilmente calculado. Esse valor é útil para a avaliação de anemia. A deficiência de ferro resulta na produção de eritrócitos microcíticos, ao passo que a regeneração acelerada destes promove a liberação de eritrócitos macrocíticos. O HCM é calculado a partir da concentração de hemoglobina e da contagem de

hemácias. A CHCM é calculada a partir da concentração de hemoglobina e do valor do hematócrito, sendo expressa em g/dL (THRALL et al., 2007).

Em relação às variações dos índices hematimétricos, algumas alterações sazonais podem ser observadas, como por exemplo, em trabalho realizado por Lawrence (1986) com *Testudo graeca* e *Testudo hermanni*, nas quais foi observado que a contagem de células brancas aumentou no outono, decaiu durante a fase de hibernação e aumentou novamente durante o verão, um aumento do número de linfócitos durante o período de atividade, a Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média diminuiu durante a hibernação e antes da recuperação durante o verão; e os eritrócitos, por conseguinte, estavam hipocrômicos durante a hibernação.

Em pesquisa realizada por Raphael et al. (1994), com testudines da espécie *Malacochersus tornieri* de dois parques nacionais da Tanzânia, os autores afirmaram que diferenças na dieta entre animais de via livre e de cativeiro podem afetar significativamente os valores sanguíneos, não sendo adequada a comparação de valores entre animais de vida livre com os de cativeiro e vice-versa.

3.2.3 Leucograma

A avaliação do leucograma de répteis compreende a contagens total e diferencial de leucócitos e o exame morfológico dos leucócitos em esfregaço sanguíneo corado. Os métodos de contagem manual são utilizados na contagem de leucócitos de répteis, pois trombócitos e eritrócitos nucleados não permitem a contagem pelo contador eletrônico de células. Os métodos empregados na contagem são o método de Natt-Herrick ou o método da Floxina B (THRALL, 2007).

Com relação à contagem diferencial de leucócitos, os esfregaços podem ser corados com Wright's, Giemsa ou Wright's/ Giemsa. Colorações rápidas, tais como Dif-Quik podem ser usada, porém possuem uma tendência em danificar algumas células, como, por exemplo, os linfócitos (CAMPBELL, 2006). Com essas misturas de corantes, as estruturas acidófilas ficam na cor rosa, as basófilas em azul e as que fixam os azules, ditas azurófilas, aparecem na cor púrpura (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004)

Em trabalho realizado por Hidalgo-Villa et al. (2007) com Cágado Mediterrâneo (*Mauremys leprosa*) de vida livre, em reserva ecológica na Espanha, foi obtida na contagem diferencial de leucócitos, uma média de 53,8% e 58,5% de heterófilos, 35,3% e 32,6% de

eosinófilos, 6,3% e 5,8% de linfócitos, 4,3% e 2% de monócitos em machos e fêmeas, respectivamente. Não foram encontrados basófilos.

Em pesquisa realizada por Pires et al. (2006) com tartarugas marinhas da espécie *Caretta caretta* criadas em cativeiro na Praia do Forte, Bahia, foram utilizados 8 animais, sendo sete fêmeas e um macho, em que a contagem diferencial de leucócitos foi de Heterófilos 59,38% (\pm 16,27), eosinófilos 10,38% (\pm 6,32), basófilos 0,13% (\pm 0,35), linfócitos 29,25% (\pm 17,12), monócitos 0,88% (\pm 2,10). Os mesmos autores ressaltam que entre a literatura consultada há valores distintos, possivelmente devido à grande variação entre indivíduos da mesma faixa etária, assim como da dificuldade de classificação dos leucócitos, e a difícil diferenciação entre linfócitos e trombócitos.

De acordo com Oliveira (2003), os linfócitos correspondem de 15 a 89 % da contagem leucocitária, os monócitos de 0,5 a 3%, os neutrófilos de 3 a 7%, os heterófilos de 20 a 40%, os eosinófilos de 7 a 20%, os basófilos de 20 a 25% e os plasmócitos a 0,5% da contagem de leucócitos de répteis.

Em pesquisa realizada por Deus et al. (2009) com 60 tartarugas marinhas da espécie *Chelonia mydas* do arquipélago de Fernando de Noronha-PE, na contagem diferencial, foi obtida a seguinte ordem de predominância entre as células: heterofilos, linfócitos, eosinófilos, monócitos e basófilos. O autor comparou seus dados com Work et al., (1998), cuja ordem de predominância foi: linfócitos, monócitos, heterofilos, eosinófilos e basófilos. O autor atribuiu estas diferenças provavelmente à difícil diferenciação se algumas células na microscopia óptica, em que os autores do trabalho citado referem à dificuldade de diferenciação entre trombócitos e basófilos.

Em pesquisa realizada por Pires et al. (2009) com tartarugas cabeçudas (*Caretta caretta*) de vida livre e mantidas em cativeiro na Bahia, ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os valores da contagem relativa de monócitos entre os dois grupos. Foram também observadas diferenças significativas entre os eosinófilos, com os animais de vida livre apresentando valores maiores, o que segundo os autores, pode ser devido aos animais de vida livre possuírem um estímulo parasitário maior, visto que os animais de cativeiro passaram por procedimentos de vermifugação.

Em pesquisa realizada por Work e Balazs (1999) com tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) com fibropapilomatose, os autores estabeleceram um escore que varia de 0 a 3,

levando em consideração a severidade gerada pelos fibropapilomas e chegaram à conclusão de que a medida que o escore aumenta, ocorre um decréscimo no hematócrito, linfócitos, basófilos e contagem de células brancas e um progressivo aumento de número de heterófilos.

3.3 Bioquímica sérica

Sabe-se que nos animais silvestres, na maioria das vezes as informações que se pode obter são mínimas e inadequadas para o estabelecimento de um diagnóstico. Em virtude disto, o clínico tem como opção a utilização de exames complementares de diagnóstico, dentre eles o perfil bioquímico sanguíneo (SANTOS et al., 2005).

O perfil bioquímico sanguíneo é utilizado com frequência para avaliar a saúde dos répteis; no entanto, há poucas pesquisas controladas a respeito do significado das alterações na bioquímica do sangue de répteis, em comparação com as referentes aos mamíferos domésticos. Portanto, a bioquímica clínica de répteis ainda não alcançou o estágio de avaliação criteriosa verificado em medicina de mamíferos domésticos (THRALL et al., 2007).

Em geral, os procedimentos para interpretação dos testes de bioquímica sanguínea de répteis são semelhantes àqueles descritos para mamíferos domésticos, porém considerando que os fatores externos (por exemplo, condições ambientais) têm maior influência na fisiologia e saúde normal de vertebrados ectotérmicos. Os parâmetros bioquímicos do sangue de répteis são influenciados por espécie, idade, sexo, condição nutricional, estação do ano e estágio fisiológico, fatores que tornam a interpretação dos resultados um desafio (THRALL et al., 2007).

Há relato de valores de referência normais para testes bioquímicos do sangue específicos em poucas espécies de répteis. Contudo, na elaboração desses intervalos de referência frequentemente não é considerada a influência das condições ambientais e das variações fisiológicas decorrentes da condição nutricional, do sexo e da idade do animal, tornando tais faixas de variação menos confiáveis. Os métodos de coleta, manuseio e análise bioquímica das amostras são fatores adicionais de variação nos valores de referência publicados (THRALL et al., 2007).

Com relação aos itens avaliados na bioquímica sérica, em estudos com Cágados Leopardo (*Geochelone pardalis*) em cativeiro, Rechav et al. (1993) analisaram os parâmetros

de sódio, potássio, cloro, dióxido de carbono, ureia, ácido úrico, creatinina, proteínas totais, albumina, fósforo inorgânico, cálcio, colesterol, triglicerídeos, glicose, magnésio, Aspartato aminotransferase, Alanino aminotransferase, transaminases, creatina cinase, Lactato Desidrogenase (LDH), Gama glutamiltransferase, Fosfatase Alcalina e bilirrubina total.

3.3.1 Dosagem de íons e Proteínas Totais

A concentração sérica de sódio varia de 120 a 170 mEq/L. O teor normal de sódio em tartarugas terrestres e de água doce varia de 120 a 150 mEq/L. Tartarugas marinhas tendem a apresentar maior concentração sérica de sódio, variando de 150 a 170 mEq/L. o teor normal de sódio de lagartos abrange de 140 a 170 mEq/L, enquanto o de cobras, como jiboia e píton abrange de 130 a 160 mEq/l (THRALL et al., 2007).

A hiponatremia pode decorrer da perda excessiva de sódio associada a distúrbios gastrintestinais (diarreia), renais ou, possivelmente, das glândulas de sal. Hipernatremia resulta de desidratação, por perda excessiva ou consumo inadequado de água e consumo de dieta com alto teor de sal (CAMPBELL, 2006).

O cloreto é o principal ânion no sangue e juntamente com o sódio, são os principais componentes osmoticamente ativos do plasma na maioria dos répteis. A concentração sérica normal de cloreto varia em função da espécie, mas em geral se situa entre 100 e 130 mEq/L. A concentração de cloreto em tartarugas marinhas varia de 100 a 110 mEq/L e, na maioria das serpentes e lagartos, de 100 a 130 mEq/L. O teor sanguíneo de cloreto fornece informação clínica a respeito do equilíbrio eletrolítico (THRALL et al., 2007).

É rara a ocorrência de hipocloremia em répteis, mas quando presente sugere perda excessiva de íons cloreto ou hidratação excessiva com fluido pobre em íons cloreto. A hiperclorémia está associada à desidratação e, possivelmente, doença tubular renal ou a distúrbio de glândulas de sal (THRALL et al., 2007).

A concentração sérica normal de potássio também varia entre as espécies de répteis, sendo comum entre 2 e 6 mEq/L. O teor plasmático normal de potássio na maioria das tartarugas marinhas, lagartos e cobras varia de 2 a 6, 3 a 5 e 3 a 6 mEq/L, respectivamente. Os distúrbios comuns no teor sérico de potássio incluem ingestão de dieta com teor inadequado de potássio, perda gastrintestinal excessiva (hipocalemia) e menor secreção renal (hipercalemia). A hipocalemia também pode estar associada à alcalose grave. Hipercalemia

pode decorrer do consumo de dieta com alto teor de potássio ou de acidose grave (THRALL et al., 2007).

A concentração sérica de cálcio na maioria dos répteis varia de 8 a 11 mEq/L, sendo influenciada pela espécie quanto ao estado fisiológico do animal. Por exemplo, algumas espécies de tartaruga terrestre têm baixa concentração de cálcio, menor que 8mg/dL (THRALL et al., 2007).

Na maioria dos répteis, considera-se hipocalcemia quando o teor plasmático de cálcio é inferior a 8 mg/dL. É possível notar hipocalcemia nos casos de deficiências de cálcio e de vitamina D3 e excesso de fósforo na dieta, alcalose, hipoalbuminemia e hipoparatiroidismo (THRALL et al., 2007). É importante considerar que dietas herbívoras são frequentemente deficientes em cálcio e contém excessiva quantidade de fósforo (CAMPBELL, 2006).

Considera-se hipercalcemia quando o concentração plasmática de cálcio supera 20 mg/dL, o que ocorre quando há quantidade excessiva de cálcio na dieta ou após injeção parenteral de vitamina D3 e cálcio. Tipicamente, é um distúrbio iatrogênico associado à suplementação excessiva de cálcio e vitamina D3. Outros diferenciais para hipercalcemia são hiperparatiroidismo primário, pseudo-hiperparatiroidismo e doença óssea osteolítica. No entanto, tais distúrbios raramente são relatados em répteis (THRALL et al., 2007).

Na maioria desses animais, a concentração sérica normal de fósforo varia de 1 a 5 mg/dL. A hipofosfatemia pode ser causada por inanição ou por deficiência de fósforo na dieta. Considera-se hiperfosfatemia quando o teor plasmático de fósforo é superior a 5 mg/dL. Dentre as causas de hiperfosfatemia estão dietas com alto teor de fósforo, hipervitaminose D3 e doença renal. Causas raras de hiperfosfatemia são lesão tecidual grave e doença óssea osteolítica. Pode haver falsa-hiperfosfatemia quando o soro ou o plasma não é imediatamente separado do coágulo sanguíneo, permitindo a liberação de fósforo pelos eritrócitos (THRALL et al., 2007).

A relação cálcio: fósforo serve como indicador para doença renal em répteis, a qual em animais sadios geralmente situa-se acima de 1, porém a relação é menor em casos de doença renal (ALMOSNY, 2014).

Hidalgo-Villa et al. (2007) afirmaram que com exceção do LDH e creatinina, todos os demais parâmetros bioquímicos analisados foram maiores nas fêmeas do que nos machos. Em relação ao cálcio, os autores deste trabalho relacionaram seus níveis mais altos em fêmeas

pelo fato do alto número de fêmeas em fase de oviposição utilizadas na pesquisa. Os autores relataram que as diferenças nos parâmetros podem estar associadas com a influência do cativeiro na fisiologia dos animais, ou até mesmo devido à utilização de animais jovens nos trabalhos dos outros autores.

Em estudos realizados por Marks e Citino (1990) com sete machos e três fêmeas de Jabutis- estrelados- de- Madagascar (*Astrochelys radiata*) de zoológico de Miami, dos parâmetros bioquímicos e hematológicos avaliados, apenas o cálcio teve variação significativa em relação aos trabalhos comparados. Os autores afirmam que embora tal fato seja devido à fase de oviposição, apenas um dos animais estava nesta fase, e mesmo assim não diferiu dos machos e fêmeas utilizados na pesquisa.

A concentração sérica de proteína total em répteis sadios geralmente varia de 3 a 7 g/dL. As fêmeas apresentam aumento acentuado no teor plasmático de proteína durante a foliculogênese ativa. Essa hiperproteinemia induzida por estrógeno está associada ao aumento da concentração de proteínas (principalmente globulinas) necessário para a produção da gema do ovo. O teor plasmático de proteína total retorna ao normal após a ovulação (CAMPBELL, 2006).

Na maioria dos répteis, considera-se hiperproteinemia quando o valor de proteína total é superior a 7 g/dL e ocorre juntamente com desidratação ou hiperglobulinemia associada à doença inflamatória crônica. Doenças infecciosas podem provocar uma elevação dos níveis das globulinas alfa, beta e gama (THRALL et al., 2007). Pires et al. (2006), encontraram uma média de valores de proteína plasmática total de 6,5 g/dL, sendo considerada relativamente alta, quando comparadas com os valores de outros autores que também pesquisaram tartarugas.

Hipoproteinemia requer valor de proteína total inferior a 3 g/dL; em répteis, ela comumente está associada à má nutrição crônica. No entanto, devem-se considerar outras causas, como má absorção, má digestão, enteropatias com perda de proteínas, hemorragia grave e doença hepática ou renal crônica (THRALL et al., 2007).

No que diz respeito à bioquímica sérica, dos 16 parâmetros avaliados por Gottdenker e Jacobson (1995), foram observadas diferenças significativas nos níveis de glicose, potássio, cloro, ácido úrico, cálcio, fósforo, proteínas totais, albumina, globulina, Fosfatase Alcalina, aspartato-aminotransferase e colesterol total.

Na bioquímica sérica, Pires et al. (2009) ao compararem os grupos de tartarugas cabeçudas (*Caretta caretta*) de vida livre com de cativeiro, verificaram diferenças significativas para os valores de proteína total, globulinas, glicose, colesterol e Aspartato-aminotransferase. Os autores atribuíram estas diferenças com as condições ambientais, nutricionais e reprodutivas, as quais estes animais foram submetidos.

3.3.2 Dosagem de enzimas hepáticas

Quanto às enzimas hepáticas em répteis, Oliveira (2003) declara que se costuma analisar as dosagens de sódio, potássio, cloreto, cálcio, fósforo, glicose, ureia, ácido úrico, creatinina, colesterol, alanino-aminotransferase (ALT), aspartato-aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (ALP), proteína total (PT). Restringindo o grupo para os testudines, Dutra (2014) pontua que devem ser avaliados os seguintes parâmetros: proteína total, albumina, glicose, ácido úrico, (AST), creatina cinase (CK), cálcio e fósforo.

Em répteis, as enzimas hepáticas parecem semelhantes às de aves e mamíferos. O tecido hepático de répteis apresenta altas atividades de LDH e AST e, embora poucos estudos tenham focado o perfil bioquímico sanguíneo de répteis com intuito de avaliar doença hepática, o aumento da atividade plasmática de AST não é considerada órgão-específica, pois essa enzima está presente em vários tecidos. Em geral, a atividade plasmática normal de AST é inferior a 250 UI/L. Contudo, doenças generalizadas como septicemia e toxemia podem lesar esses tecidos e ocasionar aumento da atividade plasmática dessa enzima (THRALL et al., 2007).

Semelhantemente a AST, a atividade de ALT não é considerada órgão-específica em répteis. A atividade plasmática normal de ALT geralmente é inferior a 20 UI/L. Embora se encontre atividade dessa enzima no fígado de répteis, o aumento da atividade de ALT pode não ser tão confiável para detecção de doença hepatocelular quanto o aumento da atividade plasmática de AST ou LDH (CAMPBELL, 2006).

A Fosfatase Alcalina também está amplamente distribuída pelos tecidos corporais de répteis e a atividade plasmática dessa enzima não é considerada órgão-específica. Há pouca informação disponível a respeito da interpretação do aumento dessa atividade; no entanto, o seu aumento pode indicar maior atividade osteoblástica (THRALL et al., 2007).

Em pesquisa realizada por López-Olvera et al. (2003) com testudines da espécie *Testudo marginata*, foi comparada a diferença entre os locais de colheita sanguínea nos

exames bioquímicos, e foi observado que os valores de proteínas totais, ácido úrico, cálcio, fósforo, AST, ALT, LDH e Fosfatase Alcalina foram mais elevados nas colheitas de sangue da veia braquial do que em amostras colhidas da veia coccígea dorsal.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMOSNY, N. R. P.; MONTEIRO, A. O. Patologia Clínica. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Silvestres**. São Paulo: Roca, 2007. Cap. 59, p. 939-966.

ALMOSNY, N. R. Patologia Clínica em Vertebrados Ectotérmicos. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca, 2014. Cap. 84, p. 1577-1596.

CAMPBELL, T. W. Clinical Pathology of Reptiles. In: MADER, D. R. **Reptile Medicine and Surgery**. St Louis: Elsevier, 2006. 1242 p.

CUBAS, P. H.; BAPTISTOTTE, C. Chelonia (Tartaruga, Cágado, Jabuti). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; Catão-Dias, J. L. **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca, 2007. p. 86-119.

DEUS, M. R. et al. Valores Hematológicos de tartarugas marinhas *Chelonya midas* (Linnaeus, 1758) Juvenis Selvagens do Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 6, p. 491-499, 2009.

DUTRA, G. H. P. Diagnostic Value of Hepatic Enzymes, Triglycerides and Serum Proteins for the Detection of Hepatic Lipidosis in *Chelonoidis carbonaria* in Captivity. **Journal of Life Sciences**. v. 8, n. 8, p. 633-639, 2014.

FERRONATO, B. O. *Phrinops Geoffroanus* (Testudines, Chelidae) em Ambiente Antrópico: Perfil Hematológico e Microbiota Oral. 2008. 64 f. Dissertação (Mestrado em ecologia Aplicada)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

FREITAS, M. A.; SILVA, T. F. S. **Herpetofauna das caatingas e áreas de altitudes do Nordeste brasileiro**. Pelotas: USEB, 2007. p. 258-266.

GOTTDENKER, N. L.; JACOBSON, E. R. Effect of Venipuncture Sites on Hematologic and Clinical Biochemical values in Desert Tortoises (*Gopherus agassizii*), **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, n. 1, p.19-21, 1995.

GOULART, C. E. S. **Herpetologia, Herpetocultura e Medicina de Répteis**. [S.l.] : Ed. L.F. livros de Veterinária LTDA, 2004. 330 p.

HIDALGO-VILA, J. et al. Hematologica and Biochemical Reference Intervals of free-Living Mediterranean Pond Turtles (*Mauremys leprosa*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 43, n. 4, p. 798-801, 2007.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Espécies manejadas. 2007. Disponível em: www.ibama.gov.br. Acesso em 27/01/2017.

INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE (IUCN). Red List. 2016.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 488 pp.

LAWRENCE, K.; HAWKEY, C. Seasonal Variations in Haematological Data from Mediterranean Tortoises (*Testudo graeca* and *Testudo hermanni*) in Captivity. **Research in Veterinary Science**, v. 40, p. 225-230, 1986.

LÓPEZ-OLVERA, J. R. et al. Effect of venipuncture Site on Hematologic and Serum Biochemical Parameters in Marginated Tortoise (*Testudo marginata*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 39, n. 4, p. 830-836, 2003.

MARKS, S. K.; CITINO, S. B. Hematology and Serum Chemistry of the Radiated Tortoise (*Testudo radiata*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 21, n. 3, p. 342-344, 1990.

MEAD, K. F.; BORYSENKO, M.; FINDLAY, S. R. Naturally Abundant Basophils in the Snapping Turtle, *Chelydra serpentina*, Possess Cytophilic Surface Antibody with Reaginic Function. **Journal of Immunology**, v. 130, n.1, p. 334-340. 1983.

MUNDIM, A. V. et al. Bioquímica Sanguínea da Tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) em seu Habitat Natural. **Bioscience Journal**, v. 15, n. 2, p. 35-43, 1999.

MURO, J. et al. Effects of Lithium Heparin and Tripotassium EDTA on Hematologic values of Hermann's Tortoises (*Testudo Hermanni*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 29, n. 1, p. 40-44, 1998.

OLIVEIRA, O. M. A. **Animais Silvestres e Exóticos**. São Paulo: Roca, 2003. 375 pp.

PIRES, T. T. et al. Hemograma e Bioquímica Sérica de tartarugas Cabeçudas (*Caretta caretta*) de vida Livre e mantidas em cativeiro, no Litoral Norte da Bahia. Braz. K. **Vet. Res. Sci**, v. 46, n.1, p. 11-18, 2009.

PIRES, T. T.; ROSTAN, G.; GUIMARÃES, J. E. Hemograma e Determinação de Proteína Plasmática Total de tartarugas marinhas da espécie *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758), Criadas em Cativeiro, Praia do Forte, Município de Mata de São João- Bahia. **Brazilian Journal of Veterinary. Research and Animal Science**, v. 43, n. 3, p. 348-353, 2006.

RAMEH-DE-ALBUQUERQUE, L. C. **Aspectos Hematológicos, Bioquímicos, Morfológicos e Citoquímicos de células sanguíneas em Viperídeos Neotropicais dos Gêneros *Bothrops* e *Crotalus* Mantidos em Cativeiro**. 2007. 177 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo.

RAPHAEL, B. L. et al. Blood Values in Free-Ranging pancake Tortoises (*Malachosersus tornieri*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 25, n. 1, p. 63-67, 1994.

RECHAV, Y. et al. Selected Biochemical Parameters in Captive Mountain Tortoises (*Geochelone pardalis*). **Journal of South African Veterinary Medicine Association**, v. 64, n.1, p. 35-36, 1993.

ROSSKOPF JR, W. J. Normal Hemogram, and Blood Biochemistry Values for California desert Tortoises. **Veterinary Medicine Small Animal Clinician**. v. 77, p. 85-87, 1982.

SANTANA, D. O. et al. Hatchling morphology of the Tuberculate Toadhead Turtle (*Mesoclemmys tuberculata*- Lüderwaldt, 1926) from northeastern Brazil (Testudines: Chelidae). **Herpetology Notes**, v. 8: 407-410. 2015. Disponível em: <http://www.biotaxa.org/hn/article/view/11775/14656>

SANTOS, A. L. O. et al. Variação dos Constituintes Bioquímicos e Sanguíneos de Tartarugas-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*, Schweigger- 1812) (testudinata) Mantidas em Criatório Comercial. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 3, p. 1-8, 2005.

SILVA, T. L. **Estudo Morfológico e citogenético em duas espécies do gênero Chelonoidis (Fitzinger, 1835) (Testudines)**. 2011. 117 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal)-Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto.

SOUZA, F. L. Uma Revisão sobre Padrões de Atividade, Reprodução e Alimentação de Cágados Brasileiros (Testudines, Chelidae). **Phyllomedusa**. v. 3, n. 1, p. 15-27, 2004.

STACY, N. I.; ALLEMAN, A. R.; SAYLER, K. A. Diagnostic Hematology of Reptiles. **Clinics in Laboratory Medicine**, v, 31, p. 87-108, 2011.

SWINGLAND, I. R.; KLEMENS, M. W. **The Conservation Biology of Tortoises**. n.5. Illinois: Ed. Kelvyn press. 1989. Disponível em: <<https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/ssc-op-005.pdf>>. Acessado em 31 jan. 2017 às 18:54 hs.

SYKES JM, KLAPHAKE E. Reptile Hematology. **Vet clin Exot Anim**, v. 11, 2008, p. 481-500.

THRALL, M. A. et al. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. 582pp.

VOGT, R. C. et al. Avaliação do Risco de extinção de *Chelonoidis carbonaria* (Spix, 1824) no Brasil. 2010. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/faunabrasileira/estado-de-conservacao/7399-repteis-chelonoidis-carbonaria-jabuti-piranga>

WORK, T. M.; BALAZS, G. H. Relating Tumor Score to Hematology in Green Turtles With Fibropapillomatosis in Hawaii. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 35, p. 804-807, 1999.

WRIGHT, R. K.; COOPER, E. L. Temperature Effects on Ectotherm Immune Responses. **Developmental and Comparative Immunology**. v. 5, sup. 1, p. 117-122, 1981.

ZAGO, C. E. S. et al. Morphological, morphometrical and ultrastructural characterization of *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae) blood cells, in different environments. **Micron**, v. 41, p. 1005-1010, 2010.

ZHANG, F.; GU, H.; LI, P. A Review of Chelonian Hematology. **Asian Herpetological Research**, v. 2, p. 12-20, 2011.

¹PARAMETERS OF THE ERITROGRAM AND THE HEPATIC AND ELECTROLYTIC FUNCTION FOR RED-FOOTED TORTOISE (*CHELONOIDIS CARBONARIA*, SPIX, 1824) IN CAPTIVITY

Floriano Pereira Nunes Júnior¹, Ieverton Cleiton Correia da Silva¹, Luciana Carla Rameh-de-Albuquerque², Daniel Barreto de Siqueira², Alexandre Pinheiro Zanotti², Fabiano Séllos Costa¹

1. Department of Veterinary Medicine, Federal Rural University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil

2. Dois Irmãos State Park, Recife, PE, Brazil

Abstract: Biochemical and hematological parameters of testudines are scarce in the literature. The purpose of this study was to evaluate the parameters of 10 males Red-footed tortoise, *Chelonoidis carbonaria* (Spix, 1824) of the Zoo Parque Estadual Dois Irmãos, in order to establish a profile for this species. In order to obtain blood, the animals were manually restrained, ie without anesthesia, and the samples were obtained by puncture of the dorsal coccygeal vein and were preserved in Sodium Heparin. However, the smears were fresh and stained with Giemsa. Hemoglobin dosage was obtained by semi-automatic counting and micro-hematocrit by the microhematocrit method. Samples for serum biochemistry were calculated by means of a semiautomatic counter. The data were analyzed by the statistical program SPSS. In the hematological analysis, the erythrogram was determined, obtaining a total erythrocyte count of $1.08 \times 10^5 \pm 0.71 \times 10^5 / \text{mm}^3$, Hemoglobin $17.16 \pm 8.37 \text{ g / dl}$, Hematocrit 16.7 ± 8 , 27%, Mean Corpuscular Volume $29 \pm 12.73 \text{ fl}$, Mean Corpuscular Hemoglobin $179.47 \pm 83.09 \text{ pg}$, Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration 103.5 ± 19.57 , in addition to Total Plasma Protein Assay $4.89 \pm 2.08 \text{ g / dl}$. In the leukogram, which comprised differential leukocyte counts, values of Lymphocytes were obtained $54.50 \pm 9.81\%$, Heterophils $27.00 \pm 10.53\%$, Eosinophils $0.20 \pm 0.42\%$, Monocytes $5.67 \pm 2.66\%$ and Basophils $7.50 \pm 7.00\%$. In the biochemical analysis, the values of Alanine-Aminotransferase (ALT) of $14.51 \pm 9.58 \text{ IU / l}$, Alkaline Phosphatase $113.37 \pm 52.80 \text{ IU / l}$, Glutamyltransferase Range $1.39 \pm 1.12 \text{ IU / l}$, Calcium $14.24 \pm 4.14 \text{ mg / dl}$, Phosphorus $2.88 \pm 1.71 \text{ mg / dl}$, Magnesium (Mg) $3.34 \pm 0.45 \text{ mg / dl}$, Total Proteins $3.20 \pm 1, 52 \text{ g / dl}$ and Albumin $1.38 \pm 0.35 \text{ g / dl}$. The reference ranges obtained for this species can be used as a reference for

¹ Artigo submetido na revista Journal of Herpetological Medicine and Surgery

Chelonoidis carbonaria kept in captivity, serving to verify the state of health of the animals of this species.

Key words: Leukocyte differential count, ion dosage, blood cells, wild animals, erythrogram, leukogram

INTRODUCTION

The Red-footed tortoise, *Chelonoidis carbonaria* (Spix, 1824) are widely distributed in the plains of South America, occurring in Guyana, Venezuela, Bolivia, Colombia, Paraguay, Brazil and Argentina and in Central America occurs in Panama, the Antilles and the Island of Trinidad, being widely distributed in the drier forests and pastures, being such areas relatively warm and dry most of the year. Although not listed as threatened by the International Union of Conservation Nature (IUCN, 2016), it is under considerable pressure, in view of its decline in some areas. In Brazil, it is intensely used illegally as a pet and for human consumption (Swingland and Klemens, 1989; Vogt et al., 2010). The animals of this species live around 80 to 100 years of age, possessing an omnivorous diet in nature. It has around 22 cm of carapace, weighing around 6 to 12 kg, with a uniformly yellowish-brown coloration. The female is markedly larger than the male and the latter does not have the concavity of the marked plastron (Mundim et al., 1999).

There is a growing increase in the number of reptiles, mainly tortoises that are reared as pets or kept in captivity, however, when in these situations, animals are more vulnerable to diseases caused by infectious agents, inadequate diets, as well as various conditions where these animals are often taken to the veterinarian for diagnosis and treatment (Roszkopf Junior and Shindo, 2003; Andreani et al., 2014). However, given the peculiarities and anatomical and behavioral of these species, the difficulty found for the physical exploration and the execution of an adequate clinical examination, which often appear in a subtle or non-specific way, is notorious, making the information obtained from these are minimal and most of the time unsuitable for a diagnosis, leading the clinician to use complementary methods or tests to assist him, such as the hemogram and serum biochemistry, which provide valuable information on health (Muro et al., 1998; Mundim et al., 1999; Santos et al., 2005; Mayer et al., 2011).

Some species of tortoises have already been studied in terms of haematological and biochemical parameters (Taylor and Jacobson, 1982), Marks et al. (1990), Marks and Citino

(1990) and Oyewale et al. In the present study, the results of the present study are presented in Table 1 and Table 2, and the results obtained in the present study are presented in Table 1, (1998), Eshar et al., 2004, and Shahbazkia et al., 2013, and Eshar et al., 2014. Eshar et al., 2014 and Velhasquez et al., 2014 Eshar et al., 2014 and Dutra, In the present study, however, a number of species of *C. chilensis* (Troiano and Silva, 1998) and *C. denticulata* (Pérez et al., 2011) were reported on the genus *Chelonoidis*, serum biochemistry of *C. carbonaria* with hepatic steatosis (Dutra, 2014), and serum carbonochemical and biochemical data of *C. carbonaria* in Diethelm and Stein (2006) sources extracted from ISIS (1999), but without providing information on the animals, besides Cubas and Baptistotte (2007) and Bergamini (2011) and Bergamini (2016) with *C. carbonaria* in captivity.

The interpretation of the hematological and serum biochemical parameters of Testudines requires the existence of reference intervals, as well as the standardization of the collection methods, so that data from different origins can be compared (López-Olvera et al., 2003). However, the interpretation of hematological data on reptiles is still challenging in comparison with other species, due to the low number of studies and the scarcity of reference values for comparison and interpretation of the parameters in certain species (Mayer et al., 2011; Nardini et al., 2013). Therefore, the objective of this work was to obtain a hematological profile and serum biochemistry for healthy captive Red-footed tortoise.

MATERIAL AND METHODS

Animals- Ten specimens of Red-footed tortoise were used in captivity, males, adults, belonging to the exhibition grounds of the Zoo Parque Estadual Dois Irmãos. The site has a total area of 139 m², with sandy soil, with the presence of plants of the families Poaceae and Araceae, with covered feeding place, also serving as shelter, as well as a small reservoir of water for drinking and bathing. The animals used in the research were fed once a day in the morning, always at the same time, with beef (muscle, heart and viscera), fruits, leaves and Pedigree Vital™ canine ration for adults. The project was approved by the Committee on Ethics in the Use of Animals (CEUA) of the Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), with license number 000944/2011-A01.

The collection period occurred in September 2012 and according to data from the Pernambuco Water and Climate Agency (APAC), the city of Recife presented a heat index (CI) of 31 ° C (87.8 ° F) during this period. The average maximum temperature was 28.6 ° C (83.48 ° F), the average minimum temperature was 21.2 ° C (70.16 ° F), the average

atmospheric pressure of the month was 1016, 4 hPa and air humidity presented a maximum average of 77.6% and a minimum average of 63.7%.

Prior to collection, the animals underwent a previous clinical evaluation to certify their hygiene and then underwent biometrics, which included weighing and measuring the length and circumference of the carapace. The blood, in turn, was obtained through puncture of the dorsal coccygeal vein, with the aid of a syringe, whereby about 2.0 mL of blood was collected, in which 0.5 mL was used for the preparation of the smears and differential counting of leukocytes and 1.5 mL were sent in refrigerated boxes to the private clinical pathology laboratory to evaluate their biochemical parameters, and all samples were analyzed on the day of collection.

Hematology and Biochemistry - Blood samples destined for differential counting (performed by the same person) as well as erythrocytes were stored in tubes containing Sodium Heparin as an anticoagulant. The laboratory parameters evaluated for the erythrogram were Hematocrit, MCV (Medium Corpuscular Volume), HCM (Mean Corpuscular Hemoglobin), CHCM (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration), Total Plasma Proteins, as well as manual counting of erythrocytes in the Neubauer, using as diluent the solution of Natt and Herrick, which was carried out in a maximum of 24 hours after the collection. The microhematocrit was obtained through a Top Spin® microcentrifuge at a speed of 3000 RPM for five minutes and the tube containing the centrifuged sample was analyzed on the microhematocrit card.

For the evaluation of the serum biochemistry, the serum obtained was analyzed through a semi-automatic TP Analyzer™ biochemical analyzer, using the Dolles™ kit, in which the dosages of ALT (Alanine Aminotransferase), ALP (Alkaline Phosphatase), GGT (Gama Glutamyl Transferase), calcium (Ca), phosphorus (P), Magnesium (Mg), Albumin (ALB), hemoglobin (Hb) and Total Proteins (PT). For the differential leukocyte count, the smears were stained with Giemsa.

Statistical analysis- The data were analyzed through the SPSS version 21™ program, the results being expressed through mean and standard deviation. To compare the means in relation to the reference values (from the literature), the Student's t-test was used with a margin of error of 5%.

RESULTS

No clinical signs of any pathology were observed, such as nasal discharge, difficulty breathing, difficulty in locomotion, or skin or carapace injury in the animals studied. The animals used in the research had an average weight of 7.25 ± 0.82 kg, a carapace length of 45.8 ± 2.70 cm and a carapace circumference of 42.20 ± 2.20 cm. The results obtained, for the erythrogram, leukogram and serum biochemistry, with their respective Means and Standard Deviation, can be visualized in table 1.

Table 1. Values of hemogram and serum biochemistry of *Chelonoidis carbonaria* adults kept in captivity at the Zoo Parque estadual Dois irmãos, Pernambuco, Brazil.

Hematologic parameters (Mean \pm Standard deviation)	
Erythrocytes($10^5/mm^3$)	$1,08 \times 10^5 \pm 0,71 \times 10^5$
Hemoglobin (g/dL)	$17,16 \pm 8,37$
Hematocrit (%)	$16,70 \pm 8,27$
MCV (fl)	$181,72 \pm 91,75$
HCM (pg)	$179,47 \pm 83,09$
CHCM (%)	$103,50 \pm 19,57$
Lymphocytes	$54,50 \pm 9,81$
Heterophils	$27,00 \pm 10,53$
Eosinophils	$0,20 \pm 0,42$
Monocytes	$5,67 \pm 2,66$
Basophils	$7,50 \pm 7,00$
Biochemical parameters (Mean \pm Standard deviation)	
ALT (UI/L)	$14,51 \pm 9,58$
ALP (UI/L)	$113,37 \pm 52,80$
GGT (UI/L)	$1,39 \pm 1,12$
Calcium (mg)	$14,24 \pm 4,14$
Phosphorus (mg/dL)	$2,88 \pm 1,71$
Magnesium (g/dL)	$3,34 \pm 0,45$
Total Proteins (g/dL)	$3,20 \pm 1,52$
Albumin (g/dL)	$1,38 \pm 0,35$

DISCUSSION

Erythrogram

The erythrogram values were compared to those of Troiano and Silva (1998) with *C. chilensis*, Bergaminni (2011) with *C. carbonaria* and Pérez et al. (2011) with *G. denticulata*. The values in which statistically significant differences were recorded were total erythrocyte count and MCV, which were higher than the present study and hemoglobin and CHCM, which were lower than the present study. Only the hematocrit had no statistically significant differences. As for total plasma proteins, these were compared with Bergaminni (2011) with *C. carbonaria* in captivity, with no statistically significant differences.

The differences in the other studies may have occurred because Troiano and Silva (1998) used animals from different backgrounds. As for Pérez et al. (2011) and Bergaminni (2011), such differences may have occurred due to the differences in the methods of collection, which were the subcarapacial vein and the jugular vein and subcarapacial sinus by these.

The values of total erythrocyte counts, MCV and HCM were also compared with those of Diethelm and Stein (2006) and Cubas and Baptistotte (2007) and Bergaminni (2016), all with *C. carbonaria*. The total erythrocyte counts did not differ only from those of Cubas and Baptistotte (2007), while MCV and HCM differed from these authors. However, Diethelm and Stein (2006) do not provide more information about sex, age, habitat or whether they are captive or free-living animals. MCV differences in habitat were observed by Velásquez et al. (2014), where MCV values were lower in free-living animals.

Haematological values described for reptiles often do not include information that may influence the blood count, especially the environment of the population of the animals used as control group. For these reasons the reference data of reptiles vary greatly when compared to those of domestic mammals (Campbell, 2006). Although some sources cite values obtained from the International Species Information System (ISIS, 1999) for *C. carbonaria*, however Pérez (2008) states that even though these data come from veterinary examinations and annual controls of a number of individuals for each evaluation, However, they do not indicate age, sex and management of the animals used.

The use of sodium heparin was considered adequate, since there are studies that mention EDTA as inappropriate for use in blood samples from testudines (Perpiñán et al., 2010). However, in relation to the choice of Sodium Heparin or Lithium Heparin, Bolten et al. (1992) cite variations in some biochemical parameters of *Caretta caretta*, such as phosphorus, total proteins, cholesterol and glucose, according to the type of biochemical analyzer used.

However, the same author mentions that the variations occurred more depending on the biochemical analyzer used, than on the anticoagulant.

Although such variations have occurred, it should be considered that the haematological parameters of reptiles can vary according to the physiology of the species, as well as the techniques used for analysis (Bielli et al., 2015).

The collection site as the dorsal coccygeal artery makes these results comparable only to animals collected at the same site, because although studies, such as those by Gottdenker and Jacobson (1995), report the possibility of collecting in several places, such as the same work reports the occurrence of variations in hematological and biochemical parameters when comparing the collection of the post-occipital sinus with the jugular vein in *Gopherus agassizi* and in a study by López -Olvera et al. (2003), in which there were differences between the biochemical and hematological parameters, comparing the values obtained by collection in the dorsal coccygeal vein and the brachial vein, assigning these variations to hemodilution by lymphatic contamination in the samples collected by the dorsal coccygeal vein. However, Lawrence and Hawkey (1986) did not detect differences when comparing samples collected from the dorsal coccygeal vein with samples collected by cutting the nails of *Testudo graeca* and *Testudo hermanni* in captivity.

It is believed that the time of year in which the collections were carried out may also influence the results, as cited by Lawrence and Hawkey (1986), who reports variations in hematological parameters of *Testudo graeca* and *Testudo hermanni* according to the time of year, which were lymphopenia and eosinophilia in winter and eosinopenia during the summer. Specifically in the environment that the tortoises were not expected significant variations, since no abrupt climatic variations are observed in the different seasons of the year.

The research, because it was carried out in captive animals, is recommended for comparison between captive animals, given the variations between free-living and captive populations, such as in Keller et al. (2012), which found variations in biochemical and hematological parameters when comparing free-living populations with those of captivity within the same species.

As far as total erythrocyte count values were so low, it can be explained by Rayerson (1949), who in his lacertilia research, observed that when comparing erythrocytes with hemoglobin among several species, he found that the hemoglobin concentration varies

directly with the number of erythrocytes and that the size of the erythrocytes varies inversely with their quantity. In studies conducted by Ugurtas et al. (2014), comparing two species of tortoises with two of turtles, it was observed that the largest erythrocytes were observed in tortoises and the smallest in the turtles.

The large size of the nuclei of the boobies probably interferes with the automated counting of these, which requires that the count be performed manually (HAMOODA et al., 2014).

The research was conducted only with males in captivity. However, other studies have made comparisons between free-living and captive animals, such as Velásquez et al. (2014), who observed differences between torpedoes of the *Trachemys calirrostris* free-living and captive species regarding blood parameters. The author also cites MCV values, which were lower than those of free-living relative to captivity.

Leukogram

As for the leukogram, fresh smears were performed in the animals, as recommended by Dutra et al. (2014), in which smear analysis should be done without anticoagulant. In addition, Sykes and Klaphake (2008) cite species, smear staining and assessment technique, health status, nutritional status, age, reproductive status, stress levels, gender, blood collection site, station, hibernation state of captivity and environmental factors as factors that interfere with the values and presentation of blood cells.

When compared to Troiano and Silva (1991) with males of *Chelonidid chilensis*, Pérez et al. (2011) with *Geochelone denticulata*, Cubas and Baptistotte (2007) with *Chelonoidid carbonaria*, it was observed that the values of lymphocytes, eosinophils and basophils of the present study differed statistically from the values obtained by these authors. It is believed that eosinophil values in free-living animals are higher, as observed by Pires et al. (2009) in a research with turtles of the species *Caretta caretta*, where the author believes that the parasitic stimulus should be higher in free-living animals than in captivity, which were also wormed. The values of heterophils differed from those of Pérez et al. (2011) and Cubas and Baptistotte (2007) and monocytes were superior to Cubas and Baptistotte (2007) and Pérez et al. (2011), but similar to Troiano and Silva (1991). The cell types found were similar to those of Sousa et al. (1980) for *C. carbonaria* found the following cells in the blood smears of *C. carbonaria*: erythrocytes, thrombocytes, leukocytes granulocytes (heterophils, eosinophils and basophils)

and agranulocytes (lymphocytes and monocytes). The presence of basophils was also observed by Knotková et al. (2002), who report that basophils are more frequently observed in tortoises than in mammals.

The apparent difficulty in differentiating some cell types, such as heterofilos eosinophils, is described by Nardini et al. (2013), which cites the difficulty in differentiating some cell types, which requires knowledge and much practice, not being so obvious, even for experts. The authors also cite ongoing discussions about the existence of some cell types, such as azurophils.

As for cell staining by Giemsa, it is the same dye used by Lawrence and Hawkey (1986) in studies with *Testudo graeca* and *Testudo hermanni*, in the study of leukocyte morphology, as well as differential leukocyte count.

No comparisons were made between males and females, as there were only male individuals in captivity. However, Velásquez et al. (2014) found differences in leukocyte differential count values in *T. callirostris* when comparing leukocyte differential counts between males and females and between free-living and captive animals.

Due to limitations in obtaining total cell count in the blood of reptiles, especially leukocytes, evaluation of cell morphology is an important part of evaluating your blood count (Campbell, 2006). With this, the cells were evaluated in both their aspects, as well as the presence of hemoparasites. The non-visualization of hemoparasites in this study corresponds to the one cited by Sykes and Klaphake (2008), which states that captive animals (unless housed outdoors) appear to be less susceptible to hemoparasites, which in most cases require an invertebrate animal as part of their life cycle.

Differences in the percentages of leukocytes regarding sex and habitat were reported by Velásquez et al. (2014) in research with tortoises of the species *Trachemys calilirostris*, which showed higher amounts of monocytes in males and captive animals, as well as larger eosinophils in captive animals when compared to free-living animals.

Serum Biochemistry

Serum biochemistry values were compared statistically to those of Eshar et al. (2014) with *Testudo weneri* in captivity and Taylor Jr and Jacobson (1982) with *Gopherus*

polyphemus. With respect to Eshar et al. (2014), the values of ALT, GGT, Ca, total proteins and albumin were similar, but the phosphorus values were statistically different, being lower than those of this author. Compared with Taylor and Jacobson (1982), similar values were observed for ALT, Ca, P, PT and ALB, but lower for the dosage of ALP and Mg.

With regard to Dutra (2014), in a study with *C. carbonaria* with hepatic steatosis kept in captivity, only liver enzymes were compared, whose values were higher than those of this author, where possibly these values differed as a result of this author using animals with steatosis in the research. When compared with Eshar et al. (2014), the differences may have occurred in part due to the difference in collection methods, since this author collected the samples from the subcarapacial vein and in relation to Taylor and Jacobson (1982) such differences may have occurred because these authors have performed collection through cardiac puncture.

The values were lower for P and PT, but higher for ALP and Ca than for Diethelm and Stein (2006) and Cubas and Baptistotte (2007). The values of ALT and Alb were higher than Diethelm and Stein (2006) and inferior to Cubas and Baptistotte (2007). As for GGT and Mg, the authors did not perform analyzes. Elevated GGT levels may be triggered by cholestasis (Viana et al., 2014).

Calcium levels below 20 mg / dl are within the range recommended by Thrall (2007), who consider hypercalcemia when values are above 20 mg / dl and hypocalcemia when lower than 8 mg / dl. The same author states that normal values are usually between 8 and 11 mg / dl, however such values may vary according to the species and physiological state of the animal, for example, in some species of hawthorn, whose values may be below 8 mg / dL. Phosphorus values, which were 2.88 ± 1.71 mg / dl, are within the standards established by Campbell (2006), which states that hyperphosphataemia is characterized by phosphorus values above 5mg / dl.

The values can not possibly be extrapolated to females, as it is likely that variations occur between the sexes, as in work by Dickinson et al. (2002), who found differences in the levels of PT, ALB, Cholesterol, Triglycerides, Ca, AST and Vitamin E in *Gopherus agassizii*, as well as in a study by Chung et al. (2009), who in research with *Ocadia sinensis* found differences between the sexes, with females having higher values of hematocrit and percentages of heterophils and monocytes and males with higher numbers of erythrocytes.

On the possibility of influence of diet on the variables under study, Keller et al. (2012) cites the scarcity of information on the long-term effects of excess protein and fat supplementation in captive animals, requiring studies to relate the effect of nutrients on the hematological and biochemical aspects of testudines. On feeding of these animals, it is emphasized that turtles and turtles need an adequate diet and a clean environment, being an essential condition for the health of captive animals (Roskopf Junior and Shindo, 2003). The same authors cite for turkey, a vegetable-based diet, live low-fat food, and dog or cat food. Because the feeding of the animals is similar to the one recommended by these authors, it is believed that it should not have exerted such influence on the parameters analyzed.

In works by López-Olvera et al. (2003), differences were found between collection sites, brachial vein and dorsal coccygeal vein, where differences were found in biochemical parameters (uric acid, AST, ALT, Ca and P) and haematological parameters (RBC, hematocrit, hemoglobin), except differential leukocyte count. The author attributed such variations due to lymph contamination.

The values obtained in the experimental group studied differed generally when compared to the values of normality obtained for other species of testudines. This fact reinforces that the values of normality of other species of hawthorn should not be extrapolated to *C. carbonaria*, since there are physiological variations between the species as well as environmental and alimentary differences

It can be concluded that such results can be used as a profile for captive *Chelonidis carbonaria*, but that it is necessary to consider the collection site, season of the year, and that the animals are preferably captive, so that the values are compared way.

Acknowledgments- A Capes for the financing of the scholarship, UFRPE, Focus Diagnosis and Zoo Parque Estadual Dois Irmãos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA PERNAMBUCANA DE ÁGUAS E CLIMAS (APAC). Boletim de Informações Climáticas do Mês de Setembro de 2012. Recife; 2012.

- Andreani G, Carpené E, Cannavacciuolo A, Di Girolamo N, Ferlizza E, Isani G. 2014. Reference Values for Hematology and Plasma Biochemistry Variables, and Protein Electrophoresis of Healthy Hermann's Tortoises (*Testudo hermanni* ssp.). *Veterinary Clinical Pathology*, 43(4): 573-583.
- Bergamini BCS. Valores Hematológicos em *Geochelone carbonaria* (Jabuti). 2011. 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação (Bacharelado em Medicina Veterinária)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.
- Bergamini BCS. Variação sazonal dos parâmetros hematológicos e bioquímicos do jabuti piranga (*Chelonoidis carbonaria*). 2016. 141 f. Dissertação de mestrado (Pós-graduação em Medicina Veterinária)- Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Bielli M, Nardini G, Di Girolamo N, Savarino P. 2015. Hematological Values for Adult Eastern Hermann's Tortoise (*Testudo hermanni boettgeri*) in Semi-natural Conditions. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 27 (1): 68-73.
- Bolten AB, Jacobson E, Bjorndal KA. 1992. Effects of Anticoagulant and Autoanalyzer on Blood Biochemical Values of Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*). *American Journal of Veterinary Research*, v. 53 (12): 2224-2227.
- Campbell, TW. Clinical Pathology of Reptiles. In. MADER, DR. Reptile Medicine and Surgery. 2.ed. St. Louis: Elsevier; 2006. p. 453-470.
- Chung CS, Cheng CH, Chin SC, Lee AH, Chi CH. 2009. Morphologic and Cytochemical Characteristics of Asian Yellow Pond turtle (*Ocadia sinensis*) Blood Cells and their Hematologic and Plasma Biochemical Reference Values. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 40 (1): 76-85.
- Cubas PH, Baptistotte C. Chelonia (tartaruga, cágado, jabuti), In. Cubas ZS.; Silva JCR.; Catão-Dias JL. Tratado de Animais Selvagens. São Paulo: Roca; 2007. p. 86-119.
- Dickinson VM, Jarchow JL, Trueblood MH. 2002. Hematology and Plasma Biochemistry Reference Range Values for Free-Ranging Desert Tortoises in Arizona. *Journal of Wildlife Diseases*, 38 (1):141-153.
- Diethelm G, Stein G. Hematological and Blood Chemistry Values in Reptiles. IN. MADER, DR. Reptile Medicine and Surgery. 2.ed. Reptile Medicine and Surgery. St. Louis: Elsevier; 2006. p. 1103-1118.
- Dutra GHP. 2014. Diagnostic Value of Hepatic Enzymes, Triglycerides and Serum Proteins for the Detection of Hepatic Lipidosis in *Chelonoidis carbonaria* in Captivity. *Journal of Life Sciences*. v.8 (8): 633-639.
- Eshar D, Gancz AY, Avni-Magen N, King R, Beaufrère H. 2014. Hematologic, Plasma Biochemistry, and Acid-Base Analysis of Adult Negev Desert Tortoises (*Testudo wernerii*) in Israel. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 45 (4): 979-983.
- Falce MCLB. Hematologia de Répteis. 2009. 53 f. Trabalho monográfico de conclusão do curso (Pós-graduação em Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Selvagens e Exóticos)-Universidade castelo Branco, Campinas.

- Gottdenker NL, Jacobson ER. 1995. Effect of Venipuncture Sites on Hematologic and Clinical Biochemical Values in Desert Tortoises (*Gopherus agassizii*). American Journal of Veterinary Research, v.56 (1): 19-21.
- Hamooda EAF, El-Mansouri AM, Mehdi AR. 2014. Some Blood Indexes of the Tortoise *Testudo graeca* Linn., 1758, from Benghazi Province, Libya. Scientific Research Journal, v. 2 (9): 36-44.
- INTERNATIONAL SPECIES INFORMATION SYSTEM (ISIS), 1999. Conventional U.S.A Units “*Geochelone carbonaria* South American Red- Footed Tortoise”.
- INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE (IUCN). Red List. 2016.
- Keller KA, Guzman D, Sanchez-Migallon, Paul Murphy J.; Byrne BA.; Owens SD, Kass PH, Weber, S. 2012. Hematologic and Plasma Biochemical Values of Free-Ranging Western Pond Turtles (*Emys marmorata*) with Comparison to a Captive Population. Journal of Herpetological Medicine and Surgery, v. 22 (3-4): 99-106.
- Knotková Z, Doubek J, Knotek Z, Hájkova P. 2002. Blood Cell Morphology and Plasma Biochemistry in Russian Tortoises (*Agrionemys horsfieldi*). Acta Vet. Brno, v. 71: 191-198.
- Lawrence K, Hawkey C. 1986. Seasonal Variations in Haematological Data from Mediterranean Tortoises (*Testudo graeca* and *Testudo hermanni*) in Captivity. Research in veterinary Science, v. 40: 225-230.
- López-Olvera JR, Montané J, Marco I, Martínez-Silvestre A, Soler J, Lavín S. 2003. Effect of Venipuncture Site on Hematologic and Serum Biochemical Parameters in Marginated Tortoise (*Testudo marginata*). Journal of Wildlife Diseases, 39 (4): 830-836.
- Marks SK, Citino SB. 1990. Hematology and Serum Chemistry of the Radiated Tortoise (*Testudo radiata*). Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 21 (3): 342-344.
- Mundim AV, Queiroz RP, Santos ALQ, Beletti ME, Luz VLF. 1999. Bioquímica Sanguínea da Tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) em seu Habitat Natural. Bioscience Journal. v. 15 (2): 35-43.
- Mayer J, Knoll J, Wrubel KM, Mitchell MA. 2011. Characterizing the Hematologic and Plasma Chemistry Profiles of Captive Crested Geckos (*Rhacodactylus ciliatus*). Journal of Herpetological Medicine and Surgery. v. 21 (2-3): 68-75.
- Muro J, Cuenca R, Pastor J, Vinas L, Lavín S. 1998. Effects of lithium heparin and tripotassium edta on hematologic values of Hermann’s tortoises (*Testudo hermanni*). Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 29 (1): 40-44.
- Nardini G, Leopardi S, Bielli M. 2013. Clinical Hematology in Reptilian Species. Vet clin Exot Ani, v. 16: 1-30.
- Oyewale JO, Ebute CP, Ogunsanmi AO, Olayemi FO, Durotoye L.A. 1998. Weights and Blood Profiles of the West African Hinge-Backed Tortoise, *Kinixys erosa* and the Desert Tortoise, *Gopherus agassizii*. J. Vet. Med. v. 45: 599-605.
- Perpiñán D, Armstrong DL, Dórea F. 2010. Effect of Anticoagulant and Venipuncture Site on Hematology and Serum Chemistries of the Spiny Softshell Turtle (*Apalone spinifera*). Journal of Herpetological Medicine and Surgery, v.20 (2): 1-5.

Pérez MAC. Valores Hematológicos de La Tortuga Motelo (*Geochelone denticulata*), Mantidos em Cautiverio em La Ciudad de Iquitos-Perú. Lima. Tese [título profesional de Médico Veterinario]- . Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2008.

Pires TT, Rostan G, Bittencourt TCC, Guimarães JE. 2006. Hemograma e determinação da proteína plasmática total de tartarugas marinhas da espécie *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758), criadas em cativeiro, Praia do Forte, município de Mata de São João- Bahia. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 43 (3): 348-353.

Rayerson D. 1949. A preliminary survey of reptilian blood. J. ent. Zool., 41:49-55.

Roskopf WJ, Shindo MK. 2003. Syndromes and Conditions of Commonly Kept Tortoise and Turtle Species. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, v. 12 (3): 149-161.

Santos ALO, Malta TS, Mundim AV, Alves-Júnior JRF, Carvalho SFM. 2005. Variação dos Constituintes Bioquímicos Sanguíneos de tartarugas-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*, Schweigger- 1812) (Testudinata) Mantidas em Criatório Comercial. Archives of Veterinary Science, v.10 (3):1-8.

Shahbazkia HR, Shadkhast M, Sadegh AB, Adel M, Safaei P. 2013. Serum and Urine Biochemistry of Central Asian Tortoises (*Testudo horsfieldi*). Comp. Clin. Pathol, v. 22: 1173-1176.

Santos ALO, Malta TS, Mundim AV, Alves-Júnior JRF, Carvalho SFM. 2005. Variação dos constituintes Bioquímicos Sanguíneos de Tartarugas-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*, Schweigger- 1812) (Testudinata) Mantidas em Criatório Comercial. Archives of Veterinary Science, v.10 (3): 1-8.

Swingland IR., Klemens MW. The Conservation Biology of Tortoises. Ed. Gland. 1989. Disponível em: <https://portals.iucn.org/library/efiles/documents/ssc-op-005.pdf>.

Sykes JM, Klaphake E. 2008. Reptile Hematology. Vet clin Exot Anim v. 11: 481-500.

Taylor JR RW, Jacobson ER. 1982. Hematology and serum Chemistry of the Gopher Tortoise (*Gopherus polyphemus*). Comp. Biochem. Physiol. v. 72 (2): 425-428.

Troiano JC, Silva MC. 1998. Valores Hematológicos de Referencia em Tortuga Terrestre Argentina (*Chelonoidis chilensis chilensis*). Analecta Veterinaria. 1998, v. 18 (1/2): 47-51.

Ugurtas I, Sevinc M, Yildirimhan H. 2003. Erythrocyte size and morphology of some tortoises and turtles from Turkey. Zoological Studies, 42: 173-178.

Velásquez JC, Cartagena HN, Bolaño CR, Otero GA, Pacheco JC, Arias JL. 2014. Caracterización Hematológica de Hicoteas (*Trachemys callirostris*- Gray, 1856) em Córdoba, Colombia. Rev. Med. Vet, n. 28: 43-55.

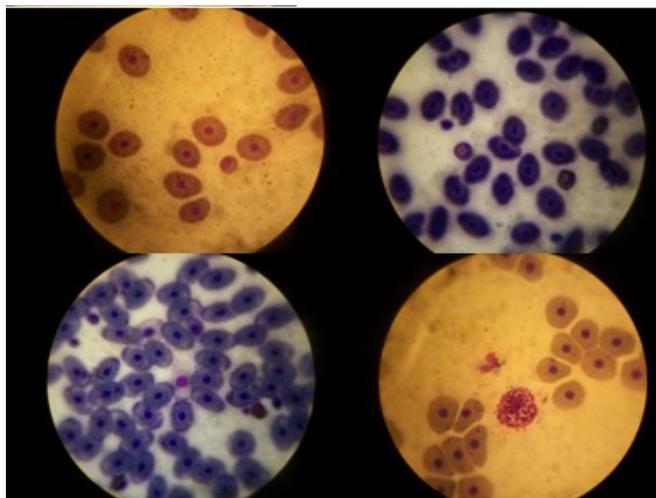
Viana DC; Silva KB; Santos AC; Oliveira AS. 2014. Perfil bioquímico em serpentes- Revisão de literatura. Ver. Ciências exatas e da terra e ciências agrárias. v.9 (1): 56-61.

Vogt RC, Fagundes CK, Bataus YSL, Balestra RAM, Batista FRQ, Uhlig VM, Silveira AL, Bager A, Batistella AM, Souza FL, Drummond GM, Reis IJD, Bernhard R, Mendonça DHST, Luz VLF. 2010. Avaliação do Risco de extinção de *Chelonoidis carbonaria* (Spix, 1824) no Brasil. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Disponível em:

<<http://www.icmbio.gov.br/portal/faunabrasileira/estado-de-conservacao/7399-repteis-chelonoidis-carbonaria-jabuti-piranga>>

ANEXOS

Anexo 1- Células sanguíneas de testudines utilizados na pesquisa observadas no microscópio óptico. Aumento de 1000X.



Fonte: Arquivo pessoal

Anexo2- Preparo das lâminas com o corante Giemsa para análise ao microscópio



Fonte: Arquivo pessoal

Anexo 3- Realização da coleta de sangue em *C. carbonaria* (A) e *P. expansa* (B).



Fonte: Arquivo pessoal



USO EXCLUSIVO DA CEUA-UFRPE

DATA DE PROTOCOLO

DATA DE VENCIMENTO DA LICENÇA

DATA DE APROVAÇÃO

LICENÇA Nº:

042/2012

000944/2014



A01

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

SOLICITAÇÃO DE LICENÇA PARA USO DE ANIMAIS

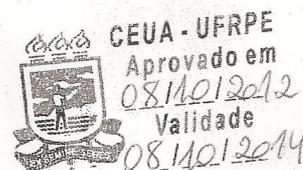
1. IDENTIFICAÇÃO DO SOLICITANTE

NOME	FABIANO SÉLLOS COSTA
INSTITUIÇÃO DE ORIGEM	UFRPE
CARGO/FUNÇÃO	PROFESSOR ADJUNTO
DEPARTAMENTO/UNIDADE ACADÊMICA	DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA
ENDEREÇO ELETRÔNICO E TELEFONE	fabianosellos@hotmail.com

2. DADOS DA EQUIPE

RESPONSÁVEL (IS)	NOME	FORMAÇÃO/QUALIFICAÇÃO*	FUNÇÃO
	Fabiano Séllos Costa	Médico veterinário/ Doutorado	Professor de Radiologia Veterinária
COLABORADOR (ES)	NOME	FORMAÇÃO/QUALIFICAÇÃO*	FUNÇÃO
	Floriano pereira Nunes Júnior	Médico Veterinário/ graduado	Médico Veterinário
	Daniel Barreto de Siqueira	Médico Veterinário/Mestrado	Médico Veterinário do Parque Estadual Dois Irmãos
	Alex Pinheiro Zanotti	Biólogo/Graduado	Biólogo do Parque Estadual Dois Irmãos
	Luciana Carla R. de A. Zanotti	Médica Veterinária/ doutorado	Médica Veterinária do Parque Estadual Dois Irmãos
	Lorena A. Vescovi Séllos Costa	Médica Veterinária/graduada	Médica Veterinária
	Daniel Capucho de Oliveira	Médico veterinário/ residente	Médico veterinário Residente em diagnóstico por imagem – Universidade Federal do Espírito Santo

*Informar titulação e/ou cursos realizados.



APÊNDICE

To ensure proper functionality of this site, both JavaScript and Cookies must be enabled.

[HOME](#)

Detailed Status Information

Manuscript #	N/A
Current Revision #	0
Submission Date	2018-01-19
Current Stage	Preliminary Manuscript Data Submitted
Title	Unknown Title
Manuscript Type	Original/ Review/ Roundtable Articles
Special Section	N/A
Corresponding Author	Floriano Nunes Júnior (Universidade Federal Rural de pernambuco)
Contributing Author	N/A
Abstract	
Associate Editor	Not Assigned
Specialty/Areas of Expertise	
Copyright Release Date	Not Received

Stage	Start Date
Preliminary Manuscript Data Submitted	2018-01-19

Em Sexta-feira, 19, Janeiro 2018 21:38:58, "mmitchell@lsu.edu" <mmitchell@lsu.edu> escreveu:

Dear Mr. Nunes Júnior,

On January 19, 2018, I received your manuscript entitled "PARAMETERS OF THE ERITROGRAM AND THE HEPATIC AND ELECTROLYTIC FUNCTION FOR RED-FOOTED TORTOISE (CHELONOIDIS CARBONARIA, SPIX, 1824) IN CAPTIVITY" by Floriano Nunes Júnior, Ieverton Correia da Silva, Luciana Rameh-de-Albuquerque, Daniel de Siqueira, Alexandre Zanotti, and FABIANO COSTA.

Your manuscript has been assigned the Paper #: 18-01-143.

You may check on the status of this manuscript by selecting the "Check Manuscript Status" link under the following URL:

<http://jhms.allentrack2.net/cgi-bin/main.plex?el=A1DV2If6A3aV7F3A9fd5NMaURo6rwVdDMo300XgZ>

(Press/Click on the above link to be automatically sent to the web page.)

Thank you for submitting your work to the Journal of Herpetological Medicine and Surgery.

Sincerely,

JOURNAL OF HERPETOLOGICAL MEDICINE AND SURGERY
ONLINE MANUSCRIPT SUBMISSION AND PEER REVIEW

To ensure proper functionality of this site, both JavaScript and Cookies must be enabled.

[HOME](#)

Manuscript Successfully submitted (18-01-144).

Home Page for Floriano Pereira Nunes Júnior

There are action items pending. Please click on the links next to the arrows →.

Author Tasks

[Author Instructions](#)

[Submit Manuscript](#)

→ [# \(Pending\) - Unknown Title](#)

 [Live Manuscripts \(3\)](#)

General Tasks

[Modify Unavailability Dates](#)

[Modify Profile/Password](#)

[Logout](#)