

DETERMINAÇÃO DE VALORES DE REFERÊNCIA PARA O HEMOGRAMA DE *Phrynops hilarii* (DUMÉRIL & BIBRON, 1835) (TESTUDINES, CHELIDAE) MANTIDAS EM CATIVEIRO NA FUNDAÇÃO PARQUE ZOOLOGICO DE SÃO PAULO.

Carolina Romeiro Fernandes Chagas, Irys Hany Lima Gonzalez, Claudia Regina Grosse Rossi Ontivero, Cybele Sabino Lisboa, Cauê Monte Chelli, Gustavo Henrique Pereira Dutra, André Nicolai Elias da Silva.

Fundação Parque Zoológico de São Paulo

chagas.carolina@yahoo.com.br

Introdução

Conhecido popularmente como cágado da lagoa ou cágado-de-barbicha, *Phrynops hilarii* (Duméril & Bibron, 1835) (Testudines, Chelidae) é a maior espécie do gênero *Phrynops* (Wagler, 1830), podendo alcançar até 40cm de comprimento de carapaça. Sua distribuição geográfica vai do sul do Brasil ao norte da Argentina, tendo como habitat riachos, lagos e brejos (Ernst & Barbour, 1989). As fêmeas fazem o ninho em locais próximos à água, em diversos substratos e podem produzir de 10 a 22 ovos (Bujes & Verrastro, 2009). A alimentação de *P. hilarii* (cágado-de-barbicha) em natureza consiste de hábitos preferencialmente carnívoros composto por peixes e moluscos (Ernst & Barbour, 1989).

Conhecer os requisitos básicos de manejo é essencial para a manutenção de *Phrynops hilarii*, além disso, a realização de exames periódicos em um programa de medicina preventiva garante um maior controle do estado de saúde dos animais. O hemograma é uma ferramenta de grande valia para a manutenção da higidez e no acompanhamento de quadros patológicos dos animais, tais como anemias, infecções e neoplasias (CAMPBELL, 1996). Para isso, é importante determinar os padrões de normalidade das variáveis que o compõe, bem como conhecer a morfologia das células que serão analisadas. Nos répteis são encontrados eritrócitos nucleados, leucócitos granulócitos (heterófilos, eosinófilos e basófilos), leucócitos agranulócitos (monócitos e linfócitos) e trombócitos (CAMPBELL, 2004) apesar de haver diferenças entre os autores quanto à classificação de alguns leucócitos, como heterófilos e eosinófilos (PITOL et al., 2007).

Uma correta interpretação do hemograma de um réptil também depende da análise dos fatores ambientais aos quais os animais estão expostos, uma vez que a temperatura e o fotoperíodo influenciam nas análises laboratoriais destes animais (FRYE, 1991), além de outros fatores estressantes como ruídos, alimentação, competição com outros animais no recinto e idade.

Segundo PITOL et al. (2008), em estudo realizado com *Phrynops hilarii* capturadas em vida-livre e mantidas em cativeiro demonstraram que, durante as análises, os diferentes tipos de leucócitos podem sofrer grandes variações ao longo do ano, que se não forem bem interpretadas podem levar a um diagnóstico errôneo. A contagem total de eritrócitos tende a ser maior antes do período de hibernação e menor logo após este período (CAMPBELL, 1996).

A determinação dos valores de referência para exames hematológicos para as espécies mantidas em cativeiro é fator determinante para a manutenção desses animais, uma vez que a utilização de valores de espécies que sejam filogeneticamente próximas a espécie estudada podem levar a interpretação de valores falsamente elevados ou diminuídos.

Objetivos

Determinar os valores de referência hematológicos para *Phrynops hilarii*.

Material e Métodos

Durante a rotina do Núcleo de Medicina Preventiva (NUPREV) da Divisão de Veterinária da Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP) foi realizada a contenção física para exame clínico e colheita de sangue de 13 indivíduos adultos de *P. hilarii*, sendo 6 machos e 7 fêmeas.

Na FPZSP, até 3 meses antes dos exames, a espécie dividia o recinto com outras duas de jacaré (*Caiman yacare* e *C. crocodilus*) e uma de tartaruga (*Trachemys s. elegans*), portanto a alimentação oferecida deveria atender às necessidades de todas. Sendo assim, *P. hilarii* tinha acesso duas vezes por semana à carne bovina, peixes, pintos, frutas e verduras. Após esse período, a espécie passou a ser mantida isoladamente em recinto também situado na área de exposição do parque que consiste de ambiente terrestre composto por areia, terra e vegetação e de um tanque com água recebendo apenas carne e peixe e estando sujeitos à iluminação natural e à temperatura ambiente.

Foi colhido 1 ml de sangue utilizando-se uma das veias jugular, braquial ou coccígea dorsal de cada animal e transferido em seguida para tubos contendo heparina lítica devidamente identificados, também foi confeccionado um esfregaço sanguíneo à fresco para posterior contagem diferencial de leucócitos e análise morfológica dos eritrócitos. As amostras foram processadas no laboratório da FPZSP em até 1 hora após a colheita (CAMPBELL, 1996; FRYE, 1991; STRIK et al., 2007).

Com as amostras foram realizados os seguintes exames: contagem total de eritrócitos e leucócitos utilizando-se a solução de Natt e Herrick e hemocítômetro (câmara de Neubauer), dosagem de hemoglobina pelo método de cianometahemoglobina fazendo-se a retirada dos núcleos do eritrócitos através de centrifugação, determinação do hematócrito através do método de microhematócrito, cálculo dos índices hematimétricos (VCM, HCM, CHCM) e contagem diferencial de leucócitos no esfregaço corado a solução de Rosenfeld, em microscópio óptico com aumento de 1000x. Os leucócitos foram caracterizados em heterófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos (CAMPBELL, 1996, 2004; FRYE, 1991; PITOL et al. 2007).

Resultados e Discussão

Das amostras, 4 apresentavam lipemia, mas não em quantidade suficiente para interferir nas variáveis analisadas. Não foram visualizadas diferenças morfológicas celulares entre os indivíduos. A presença de hemoparasitas também não foi constatada durante a leitura das lâminas. Os resultados obtidos estão na tabela 1.

A técnica utilizada para a coloração das lâminas foi satisfatória em todas as amostras, ressaltando a importância da confecção do esfregaço sanguíneo sem a presença da heparina lítica, anticoagulante que interfere no processo de coloração e favorece a agregação dos leucócitos em algumas espécies (RAPHAEL, 2003; TAVARES-DIAS, 2008); a coloração das lâminas o mais rápido possível também garante um esfregaço de melhor qualidade (PITOL, 2007).

PARÂMETROS	VALORES (Média ± Desvio Padrão)
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	0,48 ± 0,09
Hemoglobina (g/dL)	5,7 ± 0,6
Hematócrito (%)	24 ± 4
VCM (fl)	516,6 ± 124,4
HCM (pg)	120,4 ± 24,1
CHCM (g/dL)	23,7 ± 3,3
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	7,5 ± 1,7
Heterófilos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	2,70 ± 1,61
Linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	2,03 ± 0,90
Eosinófilos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	0,82 ± 0,81
Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	0,28 ± 0,21
Basófilos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	1,69 ± 0,75

Tabela 1. Valores do hemograma com média e desvio padrão de *Phrynos hilarii*.

A contagem total de eritrócitos teve como média $0,48 \times 10^6/\mu\text{l}$, com desvio padrão de $0,09 \times 10^6/\mu\text{l}$, mostrando uma contagem e desvio padrão menores dos que encontrados em *Phrynos geoffroanus* (ZAGO et al., 2005). Em comparação com ZAGO (2005), a dosagem e a variação da hemoglobina também foram menores, cujo resultado obtido foi $5,7 \pm 0,6$ g/dL. Isso pode ter ocorrido não somente por se tratar de outra espécie, mas também devido a época do ano em que a amostra foi colhida (FRYE, 1991; PITOL, 2008). *Trachemys scripta elegans* e *Mauremys caspica* de vida-livre apresentam uma contagem maior de células vermelhas durante o outono (RAPHAEL, 2003).

Em répteis é comum a presença de uma pequena quantidade de eritrócitos policromáticos (STRIK, 2007), entretanto nas amostras estudadas estas células não foram encontradas, tendo sido verificada a presença de discreta anisocitose em 2 animais e de raros dacriócitos em 1 animal.

Conforme PITOL (2008), durante o outono o leucócito mais abundante é o heterófilo, seguido pelo monócito, linfócito, eosinófilo e, em menor quantidade, o basófilo, diferentemente do que encontramos para a mesma estação do ano, onde a abundância, em ordem decrescente, foi de: heterófilo, linfócito, basófilo, eosinófilo e monócito. Os basófilos são células que apresentam pouca variação sazonal (CAMPBELL, 1996; 2004), podendo ocorrer um aumento significativo no número destas células durante a primavera (PITOL 2008).

Este estudo demonstra os valores hematológicos para *P. hiliarii* durante o outono que, embora aparentemente, possam ser a representação somente para uma estação, também podem servir como referência para animais sob condições de cativeiro, e contribuem para a correta interpretação de exames laboratoriais para a espécie. Estudos complementares com esta espécie se tornam necessários para que as variações sazonais possam ser melhores compreendidas.

Conclusões

Os valores hematológicos para a espécie *P. hiliarii* estudada durante o outono foram: eritrócitos $0,48 \pm 0,09 \times 10^6/\mu\text{l}$; hemoglobina $5,7 \pm 0,6$ g/dL; hematócrito 24 ± 4 %; VCM $516,6 \pm 124,4$ fl; HCM $120,4 \pm 24,1$ pg; CHCM $23,7 \pm 3,3$ g/dL; leucócitos $7,5 \pm 1,7 \times 10^3/\mu\text{l}$; heterófilos $2,70 \pm 1,61 \times 10^3/\mu\text{l}$; linfócitos $2,03 \pm 0,90 \times 10^3/\mu\text{l}$; eosinófilos $0,82 \pm 0,81 \times 10^3/\mu\text{l}$; monócitos $0,28 \pm 0,21 \times 10^3/\mu\text{l}$; basófilos $1,69 \pm 0,75 \times 10^3/\mu\text{l}$.

Referências Bibliográficas

- BUJES, C. S.; VERRASTRO, L. Nest temperature, Incubation time, Hatching and Emergence in the Hilaire's Side-Necked turtle (*Phrynops hilarii*), **Herpetological Conservation and Biology** 4(3):306-312. 2009.
- CAMPBELL, T. W.. Clinical pathology *In* MADER, D. R. **Reptile Medicine and Surgery**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996; p. 248-257.
- CAMPBELL, T. W.. Hematology of Lower Vertebrates. **55th Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists (ACVP) & 39th Annual Meeting of the American Society of Clinical Pathology (ASVCP)**. Middleton WI, USA. International Veterinary Information Service, Ithaca NY (www.ivis.org), p. 1214-1104. 2004.
- ERNST, C. H. & BARBOUR, R. W. **Turtles of the World**. Washington, Smithsonian Institution Press, 1989, p. 52-60.
- FRYE, F. L. Hematology as applied to clinical reptile medicine. *In* FRYE, F. L. **Biomedical and Surgical Aspects of Captive Reptile Husbandry**, 2^a ed. Malabar: Krieger Publishing, 1991; 1:209-277.
- MOLINA, F. de B.; ROCHA, M. B. da; LULA, L. A. B. de M. Comportamento alimentar e dieta de *Phrynops hilarii* (Duméril & Bibron) em Cativeiro (Reptilia, Testudines, Chelidae). **Revta bras. Zool.** 15 (1): 73-79, 1998.
- PITOL, D. L.; ISSA, J. P. M.; CAETANO, F. H.; LUNARDI, L. O. Morphological characterization of the leukocytes in circulating blood of the turtle (*Phrynops hilarii*). **Int. J. Morphol.**, 25(4):677-682. 2007.
- PITOL, D. L.; ISSA, J. P. M.; CAETANO, F. H.; LUNARDI, L. O. Radioautography study of the seasonal distribution of leucocytes in turtles *Phrynops hilarii* (Chelonia Chelidae). **Micron** 39, 1381-1386. 2008.
- RAPHAEL, B. L. Chelonians (Turtles, Tortoises) *In* FOWLER, M. E.; MILLER, R.E. **Zoo and Wild Animal Medicine**. 5^a ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2003; p. 48-58.

STRIK, N. J.; ALLEMAN, A. R.; HARR, K. E. Circulating inflammatory cells *In* JACOBSON, E. R. **Infectious Diseases and Pathology of Reptiles: Color Atlas and Text**. Florida: CRC Press, 2007, p. 167-189.

TAVARES-DIAS, M.; OLIVEIRA-JÚNIOR, A. A.; MARCON, J. L. Limitações metodológicas de contagem de leucócitos e trombócitos totais em répteis (tartaruga da Amazônia, *Podocnemis expansa*): uma análise e discussão. **Acta Amazônica**, vol.38(2) 2008: 351-356.

ZAGO, C. E. S.; VIZOTTO, L. D.; OLIVEIRA, C. O.; BONINI-DOMINGOS, C. E. Valores de normalidade da série vermelha para *Phrynops geoffroanus* (Testudine; Chelidae), de cativeiro. **Anais Sociedade Paulista de Zoológicos**. 2005.