

PERFIL HEMATOLÓGICO DE SERPENTES DA ESPÉCIE *Crotalus durissus terrificus*

**CAMAZANO, L. C., LEONARDO, S. D.,
COGO, J. C.**

Serpentário do Centro de Estudos da Natureza (CEN) - UNIVAP
UNIVAP - FE / Ciências Biológicas, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova, São José dos Campos – SP,
luciane_camazano@hotmail.com

Resumo- Com objetivo de obter os parâmetros dos valores hematológicos da serpente *Crotalus durissus terrificus*, recebidas e nascidas em cativeiro no Serpentário do CEN, foram coletados dois mililitros de sangue através de venopunção via caudal de doze animais da espécie *Crotalus durissus terrificus*, utilizando como anticoagulante a heparina. Os achados hematológicos mostraram hematócrito de 22%, valores médios de eritrócitos de 4,2 (cel x 10⁵ / mm³). No leucograma a média do número total de leucócitos foi de 8,25 (cel x 10³ / mm³) e os valores médios relativos da contagem diferencial de leucócitos foram para linfócitos de 5,52 (cel x 10³ / mm³), azurófilos, 1,88 (cel x 10³ / mm³) para heterófilo 0,51 (cel x 10³ / mm³) para basófilo 0,41 (cel x 10³ / mm³). Observamos eritrócitos de forma oval e nucleada como descrita para répteis.

Palavras-chave: hematologia, *Crotalus durissus terrificus*, serpente.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas

Introdução

O conhecimento do perfil hematológico normal de determinada espécie é de suma importância para diagnosticar enfermidades que acometem os animais mantidos em cativeiros, como os de vida livre. Eritrócitos, trombócitos e leucócitos são células comumente encontradas no sangue de serpentes. Os eritrócitos são células elípticas e nucleados. Os trombócitos são células nucleadas que variam de tamanho e forma, têm tendência de agregar e participam de mecanismo de coagulação.

A nomenclatura morfológica adotada nesse trabalho foi proposta por Alleman *et al* (1999). Segundo o autor, dentre os leucócitos de serpentes, pode-se citar, os linfócitos, os azurófilos, os heterófilos e os basófilos. Os linfócitos são células menores que os eritrócitos, mononucleados e são os leucócitos mais encontrados no sangue de serpente. Os azurófilos é o segundo leucócito mais encontrado no sangue de serpentes. Possuem o citoplasma vacuolizado e núcleo central a excêntrico. Os heterófilos são leucócitos eosinofílicos grandes, de núcleo excêntrico e com grânulos citoplasmáticos de esféricos a fusiformes. Os basófilos são células pequenas e esféricas, com grande número de grânulos basofílicos no seu citoplasma.

Este trabalho foi realizado em serpentes peçonhentas da espécie *Crotalus durissus terrificus*, que se distribui pelo Sul, mas também se estende pelo Oeste, até algumas áreas abertas de Mato Grosso, Rondônia, Amazonas e Pará

(campos abertos de Humaitá, Serra do Cachimbo e Santarém).

Estudos hematológicos em répteis são escassos, ainda mais quando se trata de serpentes peçonhentas brasileiras, desse modo decidimos realizar esse trabalho o objetivo de esclarecer a morfologia das células sanguíneas.

Materiais e Métodos

Foram estudadas amostras de doze serpentes peçonhentas da espécie *Crotalus durissus terrificus*, clinicamente saudáveis, provenientes do Serpentário pertencente ao Criadouro Conservacionista, Registro IBAMA no. 1/35/2000/001399-1 localizado no Centro de Estudos da Natureza – CEN; Universidade do Vale do Paraíba - UNIVAP, campus Urbanova / Jacareí, sendo 6 machos e 6 fêmeas microchipadas e pesando de 200g a 1 quilo variando com a idade e sexo.

Dois ml de sangue de cada animal foram coletados por venopunção da veia caudal, conforme proposto por Fye (1991). Foi usando um contentor com base plástica com quatro pontos de amarras fixadas com velcro e tampa protetora acrílica, para a retirada das amostras de sangue. Não foi necessária a utilização de contenção química.

As amostras foram acondicionadas em tubos microcapilares contendo heparina de sódio, que é o anticoagulante de escolha para as avaliações hematológicas.

O material biológico foi processado no Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D – Laboratório de Fisiologia e Farmacologia ; Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP.

O volume globular foi determinado por microcentrifugação em citocentrífuga Celm - MH por 15 minutos a 5.000 rpm, em tubos microcapilares.

As contagens de eritrócitos e leucócitos foram realizadas manualmente em Câmara de Neubauer tendo como diluente a solução de Solução fisiológica. e Türk.

A contagem diferencial de leucócitos foram estabelecidas em esfregaços sanguíneos confeccionados no momento da colheita das amostras e corados pelo método panóptico rápido e observada com auxílio de microscópio de luz no aumento de 100x.

Resultados

Nas tabelas abaixo demonstra os resultados médio dos valores hematológicos proposto nesse trabalho.

Serpente	Machos (%)	Fêmeas (%)
Jovem	23	22
Adulta	22	22

Tabela 1- Hematócrito das serpentes *Crotalus durissus terrificus*.

Serpente	Contagem total	Machos (cel.x10 ⁵ /m ³)	Fêmeas (cel.x10 ⁵ /m ³)
Jovem	Eritrócito	3,6	3,9
Adulta	Eritrócito	4,8	4,5

Tabela 2- Contagem total de eritrócito em jovens e adultos.

Serpente	Contagem total	Machos (cel.x10 ³ /mm ³)	Fêmeas (cel.x10 ³ /mm ³)
Jovem	Leucócito	8,4	8,4
Adulta	Leucócito	8,1	8,1

Tabela 3 - Contagem total de leucócito.

Tabela 4- Média da contagem relativa de acordo com sexo e idade.

Serpente	Tipos de células	Machos (cel.x10 ³ /mm ³)	Fêmeas (cel.x10 ³ /mm ³)
Jovem	linfócito	5,3	5,61
	azurófilo	2,3	1,79
	heterófilo	0,46	0,49
	basófilo	0,36	0,41
Adulta	linfócito	5,46	5,72
	azurófilo	1,72	1,72
	heterófilo	0,55	0,55
	basófilo	0,44	0,45

Não houve diferença estatística entre sexo e idade das serpentes.

Os eritrócitos apresentaram forma elíptica. O citoplasma é abundante, ocupando cerca de 80% da célula, apresentando-se acidófilo, de tonalidade rósea ou alaranjada. O núcleo, basófilo, de cromatina condensada, apresenta predominantemente a forma elíptica e ocupa a posição central da célula.

O azurófilo apresenta formato esférico, podendo às vezes mostrar contorno irregular. No citoplasma intensamente basófilo, observam-se grânulos citoplasmáticos fortemente basófilos e azurófilos. O núcleo basófilo, grosseiramente esférico, em geral com contorno irregular, ocupa posição excêntrica

Os linfócitos apresentam grande variação quanto ao tamanho e à forma. É freqüente a presença de células de aspecto irregular ou mesmo esféricas. O citoplasma é escasso, basófilo.

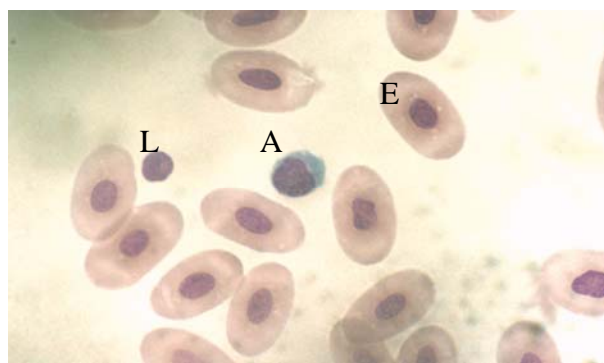


Figura 1. E (Eritrócito), A (azurófilo) e L (linfócito) de *Crotalus durissus terrificus*, aumento de 1000 X.

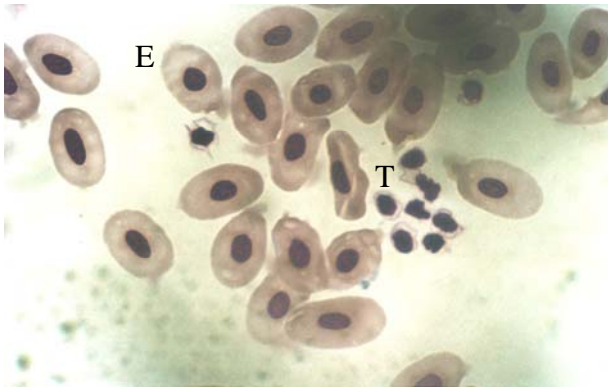


Figura 2. E (Eritrócito) e T (trombócitos) de *Crotalus durissus terrificus*, aumento de 1000 X.

Os heterófilos apresentam tamanho grande e forma de esférica a oval ou irregular. O citoplasma de maneira geral é abundante, repleto de grânulos compactos, cuja acidofilia varia na sua intensidade, dependendo do aspecto do grânulo, corando-se na tonalidade rósea escura ou salmão.

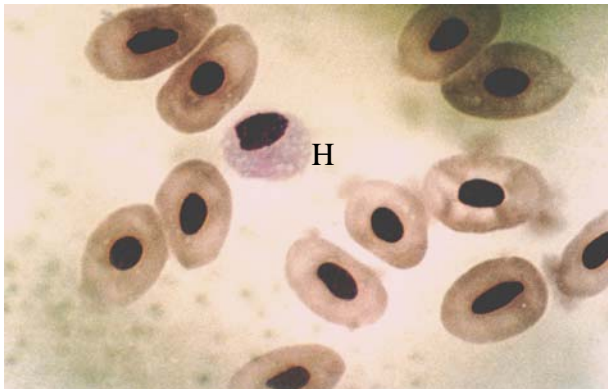


Figura 3. H (Heterófilo) de *Crotalus durissus terrificus*, aumento de 1000 X.

Discussão

Ao analisar os resultados obtidos na amostras constatou-se que estes estão de acordo com a literatura consultada.

Os eritrócitos encontrados são ovais e nucleadas o que é comum em répteis.

A média da contagem de eritrócito encontrada nesse trabalho foi de $4,20 \text{ (cel x } 10^5 / \text{mm}^3)$, sendo inferior a encontrada por Grego *et al.* (2006) de $5,55 \text{ (cel x } 10^5 / \text{mm}^3)$ para *Bothrops leucurus*. A contagem de leucócito total foi de $8,25 \text{ (cel x } 10^3 / \text{mm}^3)$, inferior do trabalho de Grego *et al.* (2006) de $8,92 \text{ (cel x } 10^3 / \text{mm}^3)$. Para os tipos de leucócito os valores encontrados foram de linfócito $5,52 \text{ (cel x } 10^3 / \text{mm}^3)$, azurófilo $1,88 \text{ (cel x } 10^3 / \text{mm}^3)$, heterófilo $0,51 \text{ (cel x } 10^3 / \text{mm}^3)$, basófilo $0,41 \text{ (cel x } 10^3 / \text{mm}^3)$. Valores não estatisticamente diferentes dos tratados por Grego *et al.* (2006), os valores dos tipos de leucócitos ficaram respectivamente, $5,73 \text{ (cel x } 10^3 /$

$\text{mm}^3)$, $1,92 \text{ (cel x } 10^3 / \text{mm}^3)$, $0,54 \text{ (cel x } 10^3 / \text{mm}^3)$, $0,41 \text{ (cel x } 10^3 / \text{mm}^3)$.

Conclusão

A informação hematológica é essencial para se reconhecer mudanças no perfil das serpentes enfermas, identificar os tipos de células inflamatórias em tecidos lesionados e entender o papel das diferentes células em infecções agudas e crônicas. Um melhor conhecimento da hematologia de serpentes é imprescindível à medida que se tenta melhorar a qualidade sanitária desses animais, tanto em vida livre como em cativeiro.

Referências

- ALLEMAN, A.R.; JACOBSON, E.R.; RASKIN, R.E. **Morphologic, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of blood cells from eastern diamondback rattlesnakes (*Crotalus adamanteus*)**. Am. J. Vet. Res., v.60, p.507-514, 1999.
- FRYE, F.L. **Hematology as applied to clinical reptile medicine** In: FRYE, F.L. (Ed.). **Reptile care-an atlas of diseases and treatments**, 1991.
- GUYTON, A. C. **Fisiologia humana e mecanismos das doenças**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
- GRECO, K. F., ALVES, J. A. S, RAMEH, L.C., FERNANDES, W. **Referências hematológicas para a jararaca de rabo branco (*Bothrops leucurus*) recém capturadas da natureza**. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.58, n.6, p.1240-1243, 2006.
- JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular**. 6^a. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 1997.
- MELGAREJO, A.R. **Serpentes peçonhentas do Brasil**. In: CARDOSO, J.L.C.; FRANÇA, F.O.S.; FAN, H.W. et al. (Org.). **Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo, 2003. v.1.
- MORA, W. L; et al. **Aspectos morfológico e citoquímico dos glóbulos sanguíneos de *Caiman crocodilus yacare* (Daulin, 1802) (*Reptilia, Crocodylia*)**. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. Vol.36 n.1. São Paulo. 1999.

- MOURA, R. A.; WADA, C. S.; PURCHIO, A.; ALMEIDA, T. V. **Técnicas de Laboratório**. Terceira edição, p. 333, São Paulo – SP, 1987.
- POUGH, F. H; HEISER, J. B.; MCFARLAND, W. N. **A Vida dos Vertebrados** , 2 ed., São Paulo: Atheneu Editora.1999.
- ROITT, I.; BROSTOFF, J.. **Imunologia**. 4. ed. São Paulo: Manole, 1997.