Luciana Carla Rameh-de-Albuquerque

**Aspectos hematológicos, bioquímicos, morfológicos e citoquímicos
de células sangüíneas em Viperídeos
neotropicais dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*
mantidos em cativeiro**

São Paulo

2007

Luciana Carla Rameh-de-Albuquerque

**Aspectos hematológicos, bioquímicos, morfológicos e citoquímicos
de células sangüíneas em Viperídeos
neotropicais dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*
mantidos em cativeiro**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Patologia Experimental e Comparada da
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Patologia

Área de Concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientador:

Prof. Dr. José Luiz Catão-Dias

São Paulo

2007

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1835
FMVZ

Rameh-de-Albuquerque, Luciana Carla

Aspectos hematológicos, bioquímicos, morfológicos e citoquímicos de células sangüíneas em Viperídeos neotropicais dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus* mantidos em cativeiro / Luciana Carla Rameh-de-Albuquerque. – São Paulo: L. C. Rameh-de-Albuquerque, 2007.

177 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, 2007.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.
Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Catão-Dias.

1. Hematologia. 2. Bioquímica sérica em animal. 3. Citoquímica. 4. Leucócitos (ultra-estrutura). 5. Viperidae. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Hematologia comparada de serpentes da família viperidae: parâmetros hematológicos, bioquímica sérica, características citoquímicas e ultraestruturais", protocolo nº820/2005, utilizando 30 (trinta) serpentes da família viperidae, sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Luis Catão Dias, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "Comparative hematology of viperidae snakes: hematological parameters, biochemical profile, cytochemical and ultrastructural characteristics", protocol number 820/2005, under the responsibility of Prof. Dr. José Luis Catão Dias, utilizing 30 (thirty) viperidae snakes, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum", meeting).

São Paulo, 20 de dezembro de 2005

Profª Drª Julia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
INSTITUTO BUTANTAN

Av. Vital Brazil, 1500, CEP 05503-900, São Paulo, SP, Brazil
Telefone: (55) (011) 3726-7222 ramal 2106 - Fax: (55) (011) 3726-1505

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo para uso de animais em experimentação nº 245/05, sobre o projeto intitulado "Hematologia comparada de serpentes da família Viperidae: parâmetros hematológicos, bioquímica sérica, características citoquímicas e ultraestruturais", sob a responsabilidade de Ida Shigueko Sano Martins e Luciana Carla Rameh de Albuquerque Zanotti está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DO INSTITUTO BUTANTAN (CEUAIB) em reunião de 06/12/2005.

São Paulo, 19 de dezembro de 2005.

Dra. Denise V. Tambourgi
Presidente da CEUAIB

De acordo:

Otávio Azevedo Mercadante
Diretor do Instituto Butantan

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: RAMEH-DE-ALBUQUERQUE, Luciana Carla

Título: Aspectos hematológicos, bioquímicos, morfológicos e citoquímicos de células sanguíneas em Viperídeos neotropicais dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus* mantidos em cativeiro

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Patologia Experimental e Comparada da
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

*Aos homens de minha vida: Alex e Pablo,
dedico a vocês a finalização de uma etapa
muito importante em minha vida.
Sem vocês nada mais importaria.*

*Aos meus preciosos pais Paulo e Lindinaura,
por terem me dado as principais lições desta vida.*

*Aos meus queridos irmãos Paulo Cristiano,
Paulo Vladimir e Rossana, pelo
inestimável amor e amizade.*

*Aos meus amados sobrinhos
Maria Clara, Felipe, Helena
Bianca e Giulia,
a vida fica mais bonita e alegre com vocês.*

*À minha família paulista, Vera, Aguinaldo,
Marcelo e Alecssandra, pelo apoio e carinho.*

*À meus avós Ide (in memoriam) e Cença
Por acreditarem em mim.*

*“É na educação e consciência de cada indivíduo
que trabalha com animais que deve estar inculcado
o princípio de minimizar a utilização, a dor, o sofrimento
e o estresse dos animais.” (Rivera, 1996)*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Luiz Catão Dias, pela orientação, amizade, paciência e compreensão em todas as etapas deste processo.

À Dr^a. Ida Sigueko Sano Martins diretora do Laboratório de Fisiopatologia do Instituto Butantan pela co-orientação e confiança depositada na realização deste trabalho.

À Dr^a. Kathleen Fernandes Grego, pesquisadora do Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan, a quem admiro e devo grande parte de meus conhecimentos na medicina veterinária de répteis, pelo apoio e amizade em todas as horas.

Ao pesquisador e Diretor do Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan, Wilson Fernandes, pela amizade, confiança, e por todo o incentivo e atenção minha caminhada.

Ao pesquisador Sávio Stefanini Sant'Anna do Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan, pela realização da análise estatística, pela montagem das pranchas e por estar sempre disposto a ajudar em todos os momentos.

A Alexandre Zanotti por todo o apoio, compreensão e ajuda, além das belas fotografias que ilustram este trabalho.

À Cristiane Kiyomi Miyaji Kolesnikovas pelo auxílio nos exames hematológicos e bioquímicos, e pelo grande carinho e amizade.

À pesquisadora Diva Denelle Spadacci Morena do Laboratório de Fisiopatologia do Instituto Butantan, pelo preparo do material de ultra-estrutura, pelas palavras de otimismo, sugestões e apoio.

À estagiária Camila Duarte de Almeida do Laboratório de Fisiopatologia do Instituto Butantan, pelo auxílio na realização da citoquímica, e pela amizade construída.

A todos os funcionários e estagiários do laboratório de Fisiopatologia do Instituto Butantan, especialmente a Neusa Tadeu Penas Picon pela ampliação das fotografias.

A Alexsander Seixas de Souza pelo auxílio no uso do microscópio eletrônico e momentos de descontração.

À Marta Maria Antoniazzi diretora do Laboratório de Biologia Celular do Instituto Butantan, pelo uso do microscópio eletrônico e a Carlos Jared, pelo auxílio na ampliação das ultramicrografias.

A Leonardo de Oliveira pela paciência, boa vontade e grande ajuda nas fotografias da microscopia de luz.

A todos os funcionários e estagiários que fazem do Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan um lugar especial de se trabalhar, por todos os momentos de amizade, descontração e alegria durante todos estes anos.

À FAPESP, processo nº05/54163-1 e ao CNPq pelo auxílio financeiro na realização deste projeto.

Aos queridos amigos Hyron, Camila, Carol, Anna Maria, Beatriz, Karina, Adriana, Rubia, Renata, Alice, Natália e Ana Luiza por todos os momentos especiais de convívio. Sem a presença de vocês em minha vida, eu jamais teria conseguido!

À minha grande família, tios, primos e amigos pernambucanos, em especial Marília, Silvana, Giovana, Lucirley e Célia, que sempre torceram para que tudo desse certo em minha jornada. Obrigada por tudo!

A todos o meu muito obrigada!

Este trabalho foi desenvolvido conjuntamente com o Laboratório de Herpetologia e Laboratório de Fisiopatologia do Instituto Butantan e o Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

RESUMO

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.** [Hematological, biochemical, morphological and cytochemical aspects of blood cells in neotropical Viperidae from *Bothrops* and *Crotalus* genus maintained in captivity]. 2007. 177 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

Este estudo apresenta um painel de dados hematológicos, bioquímicos, morfológicos e citoquímicos para um grupo de serpentes dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus* mantidas em cativeiro no Instituto Butantan. Para tanto, amostras de sangue foram colhidas da veia coccígea ventral e processadas de acordo com métodos padronizados. Os resultados alcançados foram analisados para determinar diferenças interespecíficas e sexuais. A avaliação citoquímica incluiu Sudan Black B (SBB), Ácido Periódico de Schiff (PAS) e Benzidina Peroxidase (BP). Os resultados hematológicos e bioquímicos mais relevantes indicaram um número significativamente mais alto de basófilos em *B. jararaca* e níveis mais altos de cálcio nas fêmeas da maioria das espécies. Os azurófilos marcaram positivamente para todas as colorações. A diferenciação entre trombócitos e linfócitos foi facilmente obtida com PAS. Os basófilos marcaram positivamente apenas com PAS em *Bothrops alternatus*. A marcação em heterófilos variou consideravelmente entre as espécies. Ultra-estruturalmente, os leucócitos foram semelhantes ao já descrito em literatura com algumas variações no tipo dos grânulos dos basófilos e heterófilos. Os grânulos dos basófilos apresentaram-se redondos em sua maioria, com tamanho e densidade variadas, enquanto que os nos heterófilos foram heterogêneos em forma, tamanho e densidade.

Palavras-chave: Hematologia. Bioquímica sérica em animal. Citoquímica. Leucócitos (ultra-estrutura). Viperidae.

ABSTRACT

RAMEH-DE-ALBUQUERQUE, L.C. **Hematological, biochemical, morphological and cytochemical aspects of blood cells in neotropical Viperidae from *Bothrops* and *Crotalus* genus maintained in captivity.** [Aspectos hematológicos, bioquímicos, morfológicos e citoquímicos de células sangüíneas em Viperídeos neotropicais dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus* mantidos em cativeiro]. 2007. 177 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

This study reports a panel for hematological, biochemical, morphological and cytochemical data for a group of captive snakes belonging to the genus *Bothrops* and *Crotalus* maintained at Instituto Butantan, São Paulo, Brazil. Blood samples were collected from ventral coccygeal vein and were processed according to standard protocols. Cytochemical staining including Sudan Black B (SBB), Periodic Acid-Schiff (PAS) and Benzidine peroxidase (BP) were conducted. Blood values were evaluated to determine interspecific and sex differences. We found a significant increase of basophils in *Bothrops jararaca* and higher levels of calcium in females. Azurophils stained positively for all stains and a differentiation between lymphocytes and thrombocytes was easily obtained with PAS stain. Basophils stained positively only with PAS in *Bothrops alternatus*. Heterophils staining varied between species. The ultrastructure of leucocytes were similar within described in literature, with some variations on granules of basophils and heterophils. Basophils granules were round, with heterogeneous size and density; whereas, heterophils granules were heterogeneous in shape, size and density.

Key words: Hematology. Serum biochemistry. Cytochemistry. Leukocytes (ultrastructure). Viperidae.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Filogenia do grupo Tetrapoda e suas relações cladísticas.....	36
Figura 2 –	Relacionamento filogenético entre as principais linhagens de Squamata.....	36
Figura 3 –	Relacionamento filogenético da Subordem Ophidia (Serpentes).....	36
Figura 4 –	Mapa da distribuição geográfica da espécie <i>B. alternatus</i>	38
Figura 5 –	Mapa da distribuição geográfica da espécie <i>B. jararaca</i>	39
Figura 6 –	Mapa da distribuição geográfica da espécie <i>B. jararacussu</i>	40
Figura 7 –	Mapa da distribuição geográfica da espécie <i>B. moojeni</i>	41
Figura 8 –	Mapa da distribuição geográfica da espécie <i>B. neuwiedi</i>	42
Figura 9 –	Mapa da distribuição geográfica da espécie <i>C. durissus</i>	43
Figura 10 –	Sala de produção de venenos do Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan.....	65
Figura 11 –	Caixas plásticas com substrato de papelão e água. Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan.....	65
Figura 12 –	Contenção física com laço de Lutz.....	68
Figura 13 –	Colheita de sangue através da punção da veia coccígea ventral.....	68
Figura 14 –	Fotomicrografias de células sangüíneas coradas com May-Grunwald-Giemsa modificado (Rosenfeld, 1947) (aumento 1000x). (a) Eritrócitos maduros e eritrócito imaturo em <i>B. jararacussu</i> (seta); (b) Eritrócito parasitado por <i>Hepatozoon</i> sp em <i>B. moojeni</i> (seta); (c) Trombócito elíptico em <i>B. jararacussu</i> (seta); (d) Trombócito com margens irregulares em <i>B. jararaca</i> (seta); (e) Trombócito com margens irregulares (seta) e linfócito em <i>B. jararaca</i> ; (f) Agregado de trombócitos em <i>B. neuwiedi</i> . Barra (10µm).....	111
Figura 15 –	Fotomicrografias de células sangüíneas coradas com May-Grunwald-Giemsa modificado (Rosenfeld, 1947) (aumento 1000x). (a) Linfócito em <i>B. jararacussu</i> (seta); (b) Azurófilo com aparência monocitóide em <i>B. jararacussu</i> (seta); (c) Azurófilo com muitos vacúolos no citoplasma (seta) em <i>B. jararaca</i> ; (d) Azurófilo em <i>C. d. terrificus</i> (seta). Barra (10µm).....	112
Figura 16 –	Fotomicrografias de heterófilos corados com May-Grunwald-Giemsa	113

	modificado (Rosenfeld, 1947) (aumento 1000x), mostrando diferentes intensidades na coloração. (a) Heterófilo de <i>B. alternatus</i> (seta); (b) Heterófilo de <i>C. d. terrificus</i> (seta); (c) Heterófilo de <i>B. jararaca</i> (seta); (d) Heterófilo de <i>B. neuwiedi</i> (seta). Barra (10 µm).....	
Figura 17 –	Fotomicrografias de heterófilos corados com May-Grunwald-Giemsa modificado (Rosenfeld, 1947) (aumento 1000x), mostrando diferentes intensidades na coloração. (a) Heterófilo de <i>B. jararaca</i> ; (b) Heterófilo de <i>B. neuwiedi</i> ; (c) Heterófilo não corado de <i>C. d. terrificus</i> ; (d) Heterófilo não corado de <i>B. jararacussu</i> . Barra (10 µm).....	114
Figura 18 –	Fotomicrografias de basófilos corados com May-Grunwald-Giemsa modificado (Rosenfeld, 1947) (aumento 1000x). (a) Basófilo de <i>B. neuwiedi</i> ; (b) Basófilo de <i>B. jararaca</i> ; (c) Basófilo de <i>B. alternatus</i> . (d) Basófilo de <i>B. jararacussu</i> . Barra (10 µm).....	115
Figura 19 –	Fotomicrografias de células sangüíneas positivas para PAS (aumento 1000x). (a) Trombócitos de <i>B. jararaca</i> (seta); (b) Linfócito de <i>B. alternatus</i> (seta); (c) Azurófilo de <i>B. moojeni</i> fraco positivo (seta). (d) Azurófilo de <i>B. alternatus</i> (seta); (e) Heterófilo não corado de <i>B. moojeni</i> (seta); (f) Basófilo de <i>B. alternatus</i> (seta). Barra (10 µm).....	116
Figura 20 –	Fotomicrografias de células sangüíneas positivas para benzidina peroxidase (aumento 1000x) (a) Azurófilo de <i>B. alternatus</i> (seta); (b) Azurófilo de <i>C. d. terrificus</i> (seta) ; (c) Azurófilo de <i>B. neuwiedi</i> fraco positivo (seta). (d) Heterófilo não corado de <i>B. jararacussu</i> (seta). Barra (10 µm).....	117
Figura 21 –	Fotomicrografias de células sangüíneas positivas para SBB (aumento 1000x). (a) Azurófilo de <i>B. alternatus</i> (seta); (b) Azurófilo de <i>B. moojeni</i> (seta); (c) Azurófilo de <i>B. jararaca</i> (seta); (d) Azurófilo de <i>C. D. terrificus</i> (seta); (e) Heterófilo não corado de <i>B. alternatus</i> (seta); (f) Heterófilo não corado de <i>B. jararaca</i> (seta). Barra (10 µm).....	118
Figura 22 –	Eletronmicrografia de células sangüíneas de <i>B. jararaca</i> . (a) Trombócito mostrando núcleo chanfrado (n) e citoplasma com sistema de canais abertos (seta), alfa-grânulos (cabeça de seta) e inclusão citoplasmática (i) (aumento 6000x); (b) Linfócito apresentando núcleo grande irregular (n), citoplasma com algumas mitocôndrias (m) e retículo endoplasmático rugoso (seta) (aumento 10000x).....	119
Figura 23 –	Eletronmicrografia de células sangüíneas de <i>C. d. terrificus</i> . (a) Trombócito mostrando núcleo elíptico, sistema de canais abertos (seta), mitocôndrias (m) e banda marginal de microtúbulos (cabeça de seta) (aumento 7750x); (b) Detalhe do trombócito de <i>C. d. terrificus</i> mostrando a banda marginal de microtúbulos (cabeça de seta) e mitocôndrias (m); (c) Linfócito apresentando núcleo arredondado (n) e citoplasma escasso com algumas mitocôndrias (m) (aumento 10000x)...	120

- Figura 24 – Eletronmicrografias de azurófilos em *B. jararaca*. (a) Azurófilo mostrando núcleo grande irregular (n), muitos grânulos azurofílicos (seta), retículo endoplasmático rugoso (cabeça de seta) e algumas mitocôndrias (m) (aumento 7750x); (b) Azurófilo apresentando núcleo arredondado (n), retículo endoplasmático dilatado (re), grânulos azurofílicos (seta) e algumas mitocôndrias (m) (aumento 10000x)..... 121
- Figura 25 – Eletronmicrografias de azurófilos em *C. d. terrificus*. (a) Azurófilo mostrando núcleo arredondado (n), muitos grânulos azurofílicos (seta) e algumas mitocôndrias (m) (aumento 7750x); (b) Azurófilo apresentando núcleo irregular (n), retículo endoplasmático dilatado (re), muitos grânulos azurofílicos (seta) e algumas mitocôndrias (m) (aumento 7750x)..... 122
- Figura 26 – Eletronmicrografia de Heterófilos em *B. jararaca*. (a) Heterófilo mostrando núcleo irregular, poucas mitocôndrias (m) e citoplasma com diferentes tipos de grânulos: grânulo redondo de densidade homogênea (gr₁), grânulo de conteúdo floculento (gr₂), grânulo com inclusão cristalóide (gr₃) (aumento 7750x); (b) Heterófilo apresentando núcleo chanfrado, grânulos redondos de densidade homogênea (gr₁), algumas mitocôndrias (m), complexo de Golgi (seta longa) e centríolos (seta curta) (aumento 10000x); (c) Detalhe de heterófilo apresentando grânulos de formas e densidades diferentes (gr₁) e inclusão cristalóide (gr₃) (aumento 35970x)..... 123
- Figura 27 – Eletronmicrografia de Heterófilo de *C. d. terrificus*. (a) Heterófilo arredondado apresentando núcleo excêntrico chanfrado (n), e citoplasma repleto de grânulos de tamanhos e densidades diferentes (gr₁ e gr₂); (b) Detalhe de heterófilo apresentando grânulos elétrondensos (gr₁) e com inclusão cristalóide em seu interior (gr₃); (c) Heterófilo apresentando núcleo irregular chanfrado (n), mitocôndrias (m) e grânulos heterogêneos (gr₁ e gr₃)..... 124
- Figura 28 – Eletronmicrografia de Basófilos. (a) Basófilo de *B. jararaca* apresentando núcleo arredondado (n), e citoplasma repleto de grânulos redondos em sua maioria, de densidade relativamente homogênea (gr) e algumas mitocôndrias (m) (aumento 7750x); (b) Basófilo de *C. d. terrificus* apresentando núcleo irregular (n), e citoplasma repleto de grânulos redondos (gr) em sua maioria, de densidade relativamente homogênea e algumas mitocôndrias (m) (aumento 10000x)..... 124
- Figura 29 – Eletronmicrografia de Plasmócito em *B. jararaca*, mostrando núcleo grande arredondado, e citoplasma com retículo endoplasmático exuberante (aumento 7750x)..... 126

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Número de animais utilizados, distribuídos por idade e sexo – Instituto Butantan – São Paulo – 2001.....	64
Quadro 2 –	Distribuição da procedência, respectivas quantidades de indivíduos e intervalo de tempo de cativeiro por espécie de Viperídeo – Instituto Butantan – São Paulo – 2001.....	66
Quadro 3 –	Peso em gramas e número de serpentes utilizado (n) por espécie e por idade – Instituto Butantan – São Paulo – 2001.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Valores hematológicos para espécies selecionadas de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> mantidas em cativeiro no Instituto Butantan – Março a Maio de 2001 – São Paulo – SP.....	74
Tabela 2 –	Valores bioquímicos para espécies selecionadas de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> mantidas em cativeiro no Instituto Butantan – Março a Maio de 2001 – São Paulo – SP.....	75
Tabela 3 –	Identificação dos confrontos estatísticos significantes, para valores hematológicos, distribuídos em função das espécies e parâmetros analisados – Março a Maio de 2001 – São Paulo – SP.....	76
Tabela 4 –	Identificação dos confrontos estatísticos significantes, para valores bioquímicos, distribuídos em função das espécies e parâmetros analisados – Março a Maio de 2001 – São Paulo – SP.....	77
Tabela 5 –	Valores hematológicos mínimos e máximos de machos e fêmeas para espécies selecionadas de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> mantidas em cativeiro no Instituto Butantan – Março a Maio de 2001 – São Paulo – SP.....	78
Tabela 6 –	Valores bioquímicos de machos e fêmeas de espécies selecionadas de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> mantidas em cativeiro no Instituto Butantan – Março a Maio de 2001 – São Paulo – SP.....	79
Tabela 7 –	Características citoquímicas de células sangüíneas para espécies selecionadas de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> mantidas em cativeiro no Instituto Butantan – São Paulo – SP.....	108

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Representação gráfica do número de eritrócitos distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	80
Gráfico 2 –	Representação gráfica da concentração de hemoglobina distribuída em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	81
Gráfico 3 –	Representação gráfica do número de leucócitos distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	81
Gráfico 4 –	Representação gráfica do percentual de hematócrito distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	82
Gráfico 5 –	Representação gráfica da concentração de hemoglobina corpuscular média distribuída em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	82
Gráfico 6 –	Representação gráfica do percentual de linfócitos distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	83
Gráfico 7 –	Representação gráfica do percentual de azurófilos distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B.</i>	84

alternatus), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....

Gráfico 8 –	Representação gráfica do percentual de basófilos distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	84
Gráfico 9 –	Representação gráfica do percentual de heterófilos distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	85
Gráfico 10 –	Representação gráfica do percentual de heterófilos não corados distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	85
Gráfico 11 –	Representação gráfica do número de leucócitos distribuídos em função do sexo na espécie <i>B. alternatus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	86
Gráfico 12 –	Representação gráfica do número de trombócitos distribuídos em função do sexo na espécie <i>B. alternatus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	86
Gráfico 13 –	Representação gráfica do percentual de linfócitos distribuídos em função do sexo na espécie <i>B. alternatus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	86
Gráfico 14 –	Representação gráfica do percentual de azurófilos distribuídos em função do sexo na espécie <i>B. alternatus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	86
Gráfico 15 –	Representação gráfica do percentual de basófilos distribuídos em função do sexo na espécie <i>B. jararacussu</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	87
Gráfico 16 –	Representação gráfica do percentual de linfócitos distribuídos em função do sexo na espécie <i>B. jararaca</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	87

Gráfico 17 –	Representação gráfica do percentual de azurófilos distribuídos em função do sexo na espécie <i>B. jararaca</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	88
Gráfico 18 –	Representação gráfica do número de eritrócitos distribuídos em função do sexo na espécie <i>C. d. terrificus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	88
Gráfico 19 –	Representação gráfica do número de trombócitos distribuídos em função do sexo na espécie <i>C. d. collilineatus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	89
Gráfico 20 –	Representação gráfica do nível de ALT distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	90
Gráfico 21 –	Representação gráfica do nível de CK distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	90
Gráfico 22 –	Representação gráfica do nível de fosfatase alcalina distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	91
Gráfico 23 –	Representação gráfica do nível de albumina distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	91
Gráfico 24 –	Representação gráfica do nível de proteínas totais distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	92
Gráfico 25 –	Representação gráfica do nível de colesterol distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B.</i>	93

neuwiedi), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....

Gráfico 26 –	Representação gráfica do nível de ácido úrico distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	93
Gráfico 27 –	Representação gráfica do nível de uréia distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	94
Gráfico 28 –	Representação gráfica do nível de creatinina distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	94
Gráfico 29 –	Representação gráfica do nível de cálcio distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	95
Gráfico 30 –	Representação gráfica do nível de fósforo distribuídos em função de espécies de <i>Bothrops</i> e <i>Crotalus</i> selecionadas, Ba (<i>B. alternatus</i>), Bj (<i>B. jararaca</i>), Bjs (<i>B. jararacussu</i>), Bm (<i>B. moojeni</i>), Bn (<i>B. neuwiedi</i>), Cdc (<i>C. d. collilineatus</i>) e Cdt (<i>C. d. terrificus</i>). Letras diferentes significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001.....	95
Gráfico 31 –	Representação gráfica do nível de cálcio distribuídos em função do sexo na espécie <i>B. alternatus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	96
Gráfico 32 –	Representação gráfica do nível de fosfatase alcalina distribuídos em função do sexo na espécie <i>B. alternatus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	96
Gráfico 33 –	Representação gráfica do nível de uréia distribuídos em função do sexo na espécie <i>B. alternatus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	97

Gráfico 34 –	Representação gráfica do nível de fósforo distribuídos em função do sexo na espécie <i>B. jararacussu</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	97
Gráfico 35 –	Representação gráfica do nível de cálcio distribuídos em função do sexo na espécie <i>B. jararaca</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	98
Gráfico 36 –	Representação gráfica do nível de colesterol distribuídos em função do sexo na espécie <i>B. jararaca</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	98
Gráfico 37 –	Representação gráfica do nível de albumina distribuídos em função do sexo na espécie <i>C. d. terrificus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	99
Gráfico 38 –	Representação gráfica do nível de proteínas totais distribuídos em função do sexo na espécie <i>C. d. terrificus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	99
Gráfico 39 –	Representação gráfica do nível de colesterol distribuídos em função do sexo na espécie <i>C. d. terrificus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	100
Gráfico 40 –	Representação gráfica do nível de cálcio distribuídos em função do sexo na espécie <i>C. d. terrificus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	100
Gráfico 41 –	Representação gráfica do nível de CK distribuídos em função do sexo na espécie <i>C. d. terrificus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – Paulo, 2001.....	101
Gráfico 42 –	Representação gráfica do nível de fosfatase alcalina distribuídos em função do sexo na espécie <i>C. d. terrificus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	101
Gráfico 43 –	Representação gráfica do nível de glicose distribuídos em função do sexo na espécie <i>C. d. terrificus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	102
Gráfico 44 –	Representação gráfica do nível de fosfatase alcalina distribuídos em função do sexo na espécie <i>C. d. collilineatus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	102
Gráfico 45 –	Representação gráfica do nível de cálcio distribuídos em função do sexo na espécie <i>C. d. collilineatus</i> . Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001.....	103

LISTA DE ESPÉCIES

NOME CIENTÍFICO

NOME POPULAR

Serpentes

Ameiva ameiva

Calango

Agkistrodon halys

“Halys’s viper”

Bitis arietans

“Puff adder”

Boa constrictor constrictor

Jibóia

Boiga irregularis

"Brown tree snake"

Bothrops alternatus

Urutu

Bothrops jararaca

Jararaca

Bothrops jararacussu

Jararacuçu

Bothrops moojeni

Caiçaca

Bothrops neuwiedi

Jararaca pintada

Bothrops ammodytoides

“Yarara ñata”

Crotalus adamanteus

”Eastern diamondback rattlesnake”

Crotalus cerastes

"Sidewinder"

Crotalus durissus collilineatus

Cascavel

Crotalus durissus terrificus

Cascavel

Drymarchon corais

Papa pinto

Elaphe obsoleta quadrivittata

"Yellow rat snake"

Elaphe quadrivirgata

"Yellow rat snake"

Eunectes murinus

Sucuri

Homalopsis bucatta

"Puff faced water snake"

Natrix natrix

"Grass snake"

Ophiophagus hannah

Cobra rei

Python regius

Piton bola

Trimeresurus flavoviridis

“Okinawa Habu”

Lagartos

Iguana iguana

Gallotia simonyi

Iguana

Lagarto gigante de El Hierro

Quelônios

Chelonia mydas

Chrysemys dorbignii

Trachemys dorbignii

Geoclemys reevesii

Gopherus agassizii

Lepidochelys kempi

Podocnemis unifilis

Pseudemys scripta elegans

Tartaruga verde

Tigre d'água

Tigre d'água

“Black pond turtle”

Jabuti do deserto

“Kemp’s Ridley”

Tracajá

Tartaruga de Orelha Vermelha

Crocilianos

Alligator mississippiensis

Caiman crocodilus yacare

Jacaré americano

Jacaré de papo amarelo

Rincocefalios

Sphenodon punctatus

Tuatara

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	30
2	REVISÃO DE LITERATURA	34
2.1	ASPECTOS FILOGENÉTICOS.....	35
2.2	O SANGUE: CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A COMPOSIÇÃO E CONSTITUINTES DO SANGUE DE RÉPTEIS.....	43
2.2.1	Células Sangüíneas	47
2.2.1.1	Eritrócitos.....	47
2.2.1.2	Leucócitos.....	48
2.2.1.2.1	<i>Linfócitos</i>	48
2.2.1.2.2	<i>Monócitos</i>	49
2.2.1.2.3	<i>Azurófilos</i>	50
2.2.1.2.4	<i>Heterófilos</i>	50
2.2.1.2.5	<i>Eosinófilos</i>	51
2.2.1.2.6	<i>Basófilos</i>	52
2.2.1.3	Trombócitos.....	53
2.2.2	Índices Hematimétricos	54
2.2.2.1	Volume Globular ou Hematócrito.....	54
2.2.2.2	Determinação da Concentração de Hemoglobina.....	54
2.2.2.3	Cálculo dos Índices Hematimétricos.....	55
2.3	BIOQUÍMICA SANGÜÍNEA: CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	55
2.3.1	Aspartato Aminotransferase (AST)	56
2.3.2	Alanina Aminotransferase (ALT)	56
2.3.3	Fosfatase Alcalina	56

2.3.4	CK- Creatinoquinase.....	57
2.3.5	Glicose.....	57
2.3.6	Creatinina.....	58
2.3.7	Ácido Úrico.....	58
2.3.8	Uréia.....	58
2.3.9	Colesterol.....	59
2.3.10	Cálcio.....	59
2.3.11	Fósforo.....	59
2.3.12	Proteínas Plasmáticas Totais (PPT).....	60
3	OBJETIVOS.....	61
3.1	OBJETIVO GERAL.....	62
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	62
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	63
4.1	ANIMAIS.....	64
4.2	MANUTENÇÃO EM CATIVEIRO.....	64
4.3	COLHEITA DE MATERIAL.....	67
4.3.1	Parâmetros Hematológicos.....	68
4.3.2	Parâmetros Bioquímicos.....	69
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	69
4.5	ESTUDO DAS REAÇÕES CITOQUÍMICAS.....	70
4.6	ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS ULTRA-ESTRUTURAIS.....	70
4.7	FOTOMICROGRAFIAS.....	71
5	RESULTADOS.....	72
5.1	PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS.....	73
5.1.1	Diferenças Estatísticas Significantes para Parâmetros	

	Hematológicos.....	80
5.1.1.1	Diferenças Interespecíficas.....	80
5.1.1.2	Diferenças Intersexuais.....	86
5.1.2	Diferenças Estatísticas Significantes para Parâmetros Bioquímicos...	90
5.1.2.1	Diferenças Interespecíficas.....	90
5.1.2.2	Diferenças Intersexuais.....	97
5.2	MORFOLOGIA CELULAR E CARACTERÍSTICAS CITOQUÍMICAS.....	104
5.2.1	Aspectos Citológicos e Citoquímicos.....	104
5.2.2	Aspectos Ultra-Estruturais.....	109
6	DISCUSSÃO.....	127
6.1	ANÁLISE DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS.....	129
6.2	ANÁLISE DOS RESULTADOS MORFOLÓGICOS E CITOQUÍMICOS.....	135
6.3	ANÁLISE DOS RESULTADOS ULTRA-ESTRUTURAIS.....	139
7	CONCLUSÕES.....	143
	REFERÊNCIAS.....	145
	ANEXOS.....	153

1 INTRODUÇÃO

Fachada da Biblioteca do Instituto Butantan

1 INTRODUÇÃO

O temor pelas serpentes - bem como a outros animais peçonhentos – encontra-se impregnado no imaginário popular. Registros de acidentes com animais peçonhentos no Brasil remontam à época do descobrimento. Vital Brazil, no começo do século XX, dá vida a um importante trabalho de investigação e notificação dos acidentes ofídicos no Brasil, dando início à produção de soros antiofídicos no país. Em 1982, os acidentes por animais peçonhentos no Estado de São Paulo passaram a ser incluídos como agravos de notificação compulsória, iniciando assim um sistema embrionário de vigilância epidemiológica do ofidismo. E, somente em 1988, dados sobre escorpionismo e araneísmo começaram a ser de notificação obrigatória no país, fazendo parte do Programa Nacional de Controle de Acidentes por Animais Peçonhentos (CARDOSO; WEN, 2003).

O Brasil possui uma riquíssima fauna de serpentes, cerca de 265 espécies, das quais 70 são consideradas peçonhentas, pertencendo a duas famílias e quatro gêneros. A família Viperidae engloba os gêneros *Crotalus* (cascavéis), *Bothrops* (jararacas) e *Lachesis* (surucucu), e a família Elapidae, o gênero *Micrurus* (corais verdadeiras) e, apesar de contar com tradicionais instituições e especialistas no assunto, muitas espécies desta fauna são ainda mal conhecidas ou pouco estudadas (MELGAREJO, 2003).

Os viperídeos representam o mais importante grupo de serpentes para saúde pública, pois são responsáveis pela enorme maioria e os mais graves acidentes ofídicos registrados, sendo os do gênero *Bothrops* os mais comuns. Assim, dos quatro gêneros de serpentes peçonhentas encontrados no Brasil, verifica-se o predomínio do acidente bothrópico que constitui 87,5% dos acidentes notificados no ano de 2005 no país, seguidos do crotálico (9,2%), laquélico (2,7%) e elapídico (0,6%), havendo variações de acordo com a região e distribuição geográfica das serpentes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

O Instituto Butantan foi criado em 1901 com a produção de soros contra a peste bubônica e, em seguida, iniciou um programa de criação de serpentes em cativeiro para produção de venenos e antivenenos. O Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan mantém cerca de 800 serpentes peçonhentas em cativeiro com finalidade de produção de imunobiológicos e para utilização como modelo experimental em pesquisas básicas e aplicadas. Além da produção do soro antiofídico, existem diversas investigações, algumas em

andamento e outras que já estão em aplicação, utilizando frações do veneno para a produção de fármacos, como por exemplo, a produção de uma cola biológica e a produção de remédios para hipertensão como o Captopril. O Instituto Butantan é hoje, um dos principais centros produtores de vacinas e soros do Brasil (HIGASHI, 2001).

O número de serpentes doadas ao Instituto Butantan vem caindo, vertiginosamente, a cada década. Nas décadas de 50, 60, 70, 80 e 90, foram recebidas 6562, 6045, 4853, 3293 e 1898 jararacas, respectivamente (GREGO, 2006).

Devido ao declínio no recebimento de animais peçonhentos pelo Instituto Butantan, o Laboratório de Herpetologia percebeu a necessidade de estudos na área de criação de serpentes em cativeiro, com o intuito principal de buscar a sua auto-suficiência (GREGO, 2006).

Apesar do grande período de experiência na criação e manutenção de serpentes em cativeiro, existem inúmeras dificuldades em relação ao diagnóstico precoce, prevenção e controle de doenças infecciosas. Acredita-se que estes problemas estão diretamente relacionados à dificuldade de adaptação destes animais ao cativeiro, visto que a grande maioria é proveniente da natureza e está amplamente sujeita a ação de agentes estressores (KOLESNIKOVAS, 1997).

Para implantar um programa de reprodução mais eficiente, além de entender melhor o comportamento e a fisiologia reprodutiva dos animais, é necessário estabelecer parâmetros fisiológicos normais para, em caso de doenças, diagnosticar, prevenir e tratar animais enfermos, melhorando substancialmente a qualidade de vida dos animais mantidos em cativeiro, influenciando diretamente na melhoria da produção de imunobiológicos tanto quantitativa, como qualitativamente.

Atualmente, as serpentes recém-chegadas da natureza, antes de fazerem parte do plantel de produção de veneno, passam por medidas profiláticas rigorosas, com o intuito de diminuir a possibilidade de ocorrência de doenças para o plantel já estabilizado e também para minimizar os efeitos deletérios do estresse de cativeiro. Algumas dessas medidas são a vermifugação e banho de imersão em ectoparasiticidas, exames hematológicos, além da permanência mínima de 60 dias em quarentena, onde são realizados exames coproparasitológicos (GREGO, 2006).

A identificação consistente de células sangüíneas ainda é um desafio na hematologia dos répteis (DOTSON; RAMSAY; BOUNOUS, 1995). As controvérsias permanecem ocorrendo na nomenclatura dos leucócitos, e ainda pouco se sabe sobre a

citologia ou funções destas células (SYPEK; BORYSENKO, 1988; BOUNOUS et al., 1996). O número relativo dos vários tipos de leucócitos varia consideravelmente entre as diferentes espécies de répteis, sendo que variações nas características e populações celulares existem mesmo entre espécies da mesma Ordem (ALLEMAN; JACOBSON; RASKIN, 1999; SALAKIJ et al., 2002a).

A determinação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos em uma população mantida em cativeiro é essencial para estimar a condição de saúde destes animais (TROIANO et al., 2001a). Embora tenhamos disponíveis informações sobre características hematológicas, bioquímicas e citoquímicas para várias espécies de serpentes (CHIODINI; SUNDBERG, 1982; BOUNOUS et al., 1996; LAMIRANDE et al., 1999; TROIANO et al., 1999), pouco se sabe sobre serpentes brasileiras. Desta forma, o propósito deste trabalho foi determinar parâmetros hematológicos e bioquímicos, e características morfológicas e citoquímicas de espécies selecionadas de viperídeos brasileiros dos gêneros *Crotalus* e *Bothrops* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Bothrops alternatus

2 REVISÃO DE LITERATURA

O reino animal apresenta enormes diversidades adaptativas. A adaptação de animais em novos habitats gera necessidades de modificações de estruturas antigas e surgimento de sistemas originais com novas funções. Essas adaptações, entretanto, raramente resultam na perda de todas as características da espécie ancestral de tal forma que as espécies normalmente apresentam algumas das características primitivas, além das novas e especializadas (RAMOS, 1992).

Os répteis foram os primeiros vertebrados a conquistarem definitivamente o ambiente terrestre. Este fato ocorreu a partir do desenvolvimento do âmnio, um anexo embrionário que garantiu proteção ao embrião contra a dessecação, choques mecânicos e aderência às paredes que o contêm (COBORN, 1991; FRANCO, 2003).

2.1 ASPECTOS FILOGENÉTICOS

A Classe Reptilia compreende aproximadamente 6.000 espécies viventes distribuídas em quatro Ordens distintas: Crocodilia, representada pelos jacarés, gaviais e crocodilos; Chelonia, constituída pelas tartarugas, cágados e jabutis; Squamata, da qual fazem parte as serpentes, as anfisbenas e os lagartos, e Rhynchocephalia, que apresenta uma única espécie, *Sphenodon punctatus*, conhecida como tuatara e encontrada apenas na Nova Zelândia (COBORN, 1991) (Figura 1).

Os répteis estão subdivididos em dois grandes grupos, o Anapsida que engloba a Ordem Chelonia e o Diapsida que é representado pelas demais Ordens. O grupo Diapsida é dividido em Archosauromorpha, de onde fazem parte as aves, os crocodilianos e os extintos dinossauros, e Lepidosauromorpha, representado pelas Ordens Squamata e Rhynchocephalia (RAGE, 1994b) (Figura 2). Subseqüentemente, existem ainda as subdivisões de cada família,

os gêneros, espécies e subespécies. Desta forma, a figura 3 apresenta, de forma simples e atualizada, a distribuição taxonômica da Subordem Ophidia (Serpentes).

Fonte: Franco, 2003.

Figura 1 - Filogenia do grupo Tetrapoda e suas relações cladísticas

Fonte: Franco, 2003.

Figura 2 - Relacionamento filogenético entre as principais linhagens de Squamata

Fonte:

Greene, 1997.

Figura 3 - Relacionamento filogenético da Subordem Ophidia (Serpentes)

Os representantes da Ordem Squamata estão distribuídos, geograficamente, por quase todos os ambientes, sendo abundantes nos trópicos, pouco frequentes nas regiões temperadas e ausentes nas calotas polares, onde o clima demasiadamente frio impossibilita a vida de vertebrados ectotérmicos (COBORN, 1991; MELGAREJO, 2003).

As serpentes originaram-se a partir dos lagartos e sofreram algumas modificações, como a redução e desaparecimento dos membros, desenvolvimento de escamas córneas salientes para auxiliar a locomoção, e especializações do crânio e do aparelho mandibular, assim como das glândulas salivares, para permitir a ingestão de presas inteiras e auxiliar a digestão (COBORN, 1991). São exclusivamente carnívoras, predando tanto vertebrados quanto invertebrados (RAGE, 1994b).

Há serpentes muito pequenas, como os escolecofídeos (cobras-cegas), dentre os quais algumas espécies alcançam a maturidade sexual com pouco mais de 10cm, até serpentes gigantes, com quase 10 metros de comprimento, caso de boídeos e pitonídeos como a sucuri (*Eunectes murinus*) e a píton reticulada (*Python reticulatus*) (RAGE, 1994a; FRANCO, 2003). Há serpentes aquáticas e terrestres. Dentre as aquáticas, temos as de água doce e as marinhas. No ambiente terrestre, ocupam os habitats fossorial, terrestre e arborícola. Vivem em matas, savanas ou desertos (RAGE, 1994a).

Segundo Franco (2003) há, atualmente, cerca de 2.900 espécies de serpentes no mundo, distribuídas em 465 gêneros e 20 famílias. No Brasil, temos representantes de 9 famílias, 75 gêneros e 321 espécies, ou seja, cerca de 10% do total de espécies.

A família Viperidae, com cerca de 250 espécies distribuídas pelo mundo, é formada por serpentes com aparelho inoculador de veneno do tipo solenóglifo. A fauna de Viperídeos do Brasil inclui 5 gêneros que somam ao redor de 30 espécies e, contando as subespécies, o número chega a 36 (MELGAREJO, 2003).

De acordo com o Ministério da Saúde (2006) o gênero *Bothrops* (WAGLER, 1824) possui algumas das espécies mais importantes do ponto de vista médico, já que produzem cerca de 87,5% dos 28.597 acidentes ofídicos notificados anualmente no Brasil. São espécies muito abundantes, com uma ampla distribuição geográfica, e com populações importantes nas diversas regiões do país.

A espécie *Bothrops alternatus* (urutu-cruzeiro) (DUMÉRIL, BIBRON E DUMÉRIL, 1854) é uma serpente muito temida no sul e centro-sul. Vive nos campos e outras áreas abertas e pedregosas, desde o sul de Goiás, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul para o

sul, estendendo-se até o Paraguai, Argentina e Uruguai (CAMPBELL; LAMAR, 1989; MARQUES; SAZIMA, 2003) (Figura 4).

Fonte: Campbell e Lamar, 1989.

Figura 4 - Mapa da distribuição geográfica da espécie *B. alternatus*

A espécie *B. jararaca* (jararaca) (WIED, 1824) é uma serpente ágil, com uma grande capacidade adaptativa, ocupando e colonizando tanto áreas silvestres, agrícolas, suburbanas e até urbanas. É a espécie mais comum da Região Sudeste, habitando desde o sul da Bahia até o Rio Grande do Sul, estendendo-se até o Paraguai e Argentina, podendo alcançar os estados do Mato Grosso e Goiás, sendo a principal causadora de acidentes numa vasta área geográfica. Ocupa ampla diversidade de habitats, desde florestas tropicais decíduais e semitropicais, até campos abertos (CAMPBELL; LAMAR, 1989; GREGO, 2006) (Figura 5).

Fonte: Campbell e Lamar, 1989.

Figura 5 - Mapa da distribuição geográfica da espécie *B. jararaca*

De acordo com Campbell e Lamar (1989) e Melgarejo (2003), *B. jararacussu* (jararacuçu) (LACERDA, 1884) é talvez a espécie mais imponente do gênero, chegando a atingir 1,8m de comprimento. É uma serpente predominantemente do Sul e Sudeste do Brasil, distribuindo-se desde o extremo sul da Bahia até o noroeste do Rio Grande do Sul, atingindo o Paraguai, Bolívia e Argentina (Figura 6).

Fonte: Campbell e Lamar, 1989.

Figura 6 - Mapa da distribuição geográfica da espécie *B. jararacussu*

A espécie *B. moojeni* (caiçaca) (HOGE, 1965) trata-se da principal espécie de *Bothrops* dos cerrados do Brasil central, distribuindo-se desde o Paraná até o Maranhão, sendo encontrada também no nordeste do Paraguai. Embora seja típica do cerrado (ambiente com predominância de áreas abertas), vive associada a matas que margeiam os rios. É uma das poucas espécies que têm crescido em importância médica, pois consegue se adaptar bem aos ambientes modificados (CAMPBELL; LAMAR, 1989; MARQUES; SAZIMA, 2003) (Figura 7).

Fonte: Campbell e Lamar, 1989.

Figura 7 - Mapa da distribuição geográfica da espécie *B. moojeni*

A espécie *B. neuwiedi* (jararaca-pintada) (WAGLER, 1824) trata-se na verdade de um complexo de espécies, que tradicionalmente era tratado como uma única espécie com 12 subespécies, a maioria presente no Brasil. Resumidamente, *B. neuwiedi* reúne agora as antigas subespécies *B. n. goyazensis*, *B. n. meridionalis*, *B. n. paranaensis* e *B. n. urutu*, distribuídas nos Estados da Bahia, Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Paraná; com *B. diporus* eleva a espécie a subespécie homônima, distribuída na Argentina e nos estados do Sul do Brasil (MELGAREJO, 2003) (Figura 8).

Fonte: Campbell e Lamar, 1989.

Figura 8 - Mapa da distribuição geográfica da espécie *B. neuwiedi* ssp

As serpentes do gênero *Crotalus* (LINNAEUS, 1758) são terrestres, robustas e pouco ágeis. Sua característica mais marcante é a presença do chocalho ou guizo na extremidade da cauda. O gênero *Crotalus* está representado no Brasil por uma única espécie, *Crotalus durissus*, que tem uma ampla distribuição geográfica; é típica de áreas abertas e a sua área de ocorrência está em expansão, devido aos desmatamentos e aumento de áreas para agropecuária. São conhecidas cinco subespécies: *Crotalus durissus terrificus*, *Crotalus durissus cascavella*, *Crotalus durissus collilineatus*, *Crotalus durissus ruruima* e *Crotalus durissus marajoensis*. A subespécie *C. d. terrificus* (LAURENTI, 1768) se encontra no Sul e se estende pelo oeste, até algumas áreas abertas do Mato Grosso, Rondônia, Amazonas e Pará. A subespécie *C. d. collilineatus* (AMARAL, 1926) encontra-se distribuída em áreas abertas dos estados de São Paulo, Mato Grosso, Mina Gerais, Distrito Federal e Goiás (MARQUES; SAZIMA, 2003; MELGAREJO, 2003) (Figura 9).

Fonte: Campbell e Lamar, 1989.

Figura 9 - Mapa da distribuição geográfica da espécie *C. durissus* ssp

2.2 O SANGUE: CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A COMPOSIÇÃO E CONSTITUINTES DO SANGUE DE RÉPTEIS

O sangue é um tecido formado por um meio extracelular, o plasma, e por células de três tipos: os eritrócitos, os leucócitos e os trombócitos (COLES, 1986).

Os dados hematológicos são utilizados para detectar condições que afetam o organismo como um todo, e alteram qualitativa ou quantitativamente as células sangüíneas, como anemias, doenças inflamatórias, parasitemias, desordens hematopoiéticas e alterações hemostáticas (CAMPBELL, 2006). Devido a suas múltiplas características, o sangue constitui-se em importante ferramenta de avaliação do estado funcional do organismo animal. Através de provas bioquímicas e dosagens enzimáticas pode-se diagnosticar alterações do metabolismo de diversos órgãos, tais como o fígado, rins e pâncreas, assim como a concentração de eletrólitos e equilíbrio ácido-básico (COLES, 1986).

O plasma é composto por 91,5 % de água, as proteínas plasmáticas correspondem a 7% e os sais inorgânicos, a 0,9%, sendo o restante formado por compostos orgânicos diversos, tais como aminoácidos, vitaminas, hormônios e glicose. As principais proteínas do plasma são as albuminas, as alfa, beta e gamaglobulinas, as lipoproteínas e as proteínas que participam da coagulação do sangue, como protrombina e fibrinogênio. O sangue é responsável em média por 7,5 % do peso de um animal (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

De acordo com Jacobson (1984) e Sypek e Borysenko (1988), historicamente existe uma discrepância na terminologia dos tipos celulares sangüíneos e tecidos hemopoiéticos dos répteis. Os problemas inerentes em nomear células de acordo com a coloração e função levam a diferenças entre os resultados obtidos por diversos pesquisadores. Limitações técnicas criadas pela dificuldade em utilizar reações que foram desenvolvidas para mamíferos são inevitáveis. Estas variações podem produzir falsas indicações de similaridades ou diferenças entre as espécies (HAWKEY; DENNETT, 1989).

Os répteis são animais ectotérmicos ou de sangue frio, ou seja, não possuem a capacidade de manter sua temperatura interna constante como os mamíferos e aves. São animais que dependem da temperatura do ambiente ou de outras fontes externas de calor, o que faz com que as condições de temperatura, luz e umidade sejam muito importantes para o funcionamento normal de todos os órgãos e do sistema imune (KOLESNIKOVAS, 1997).

Os exames hematológicos e de bioquímica sangüínea são extremamente importantes para conhecer tanto o funcionamento normal, como as alterações patológicas do organismo animal, tendo um papel relevante no diagnóstico diferencial e monitoramento de doenças em mamíferos e aves, situação que está se reproduzindo, pelos mesmos motivos, em outras Classes de vertebrados (HAWKEY; DENNETT, 1989). Todavia, informações sobre valores de referência para variáveis hematológicas, características morfológicas, citoquímicas e ultra-estruturais, e de bioquímica sérica, para répteis ainda são limitados (HARR et al., 2001; SALAKIJ et al., 2002a).

Os valores hematológicos normais para répteis determinados por diferentes laboratórios podem variar bastante dependendo da amostragem sangüínea, manejo e técnicas de análise. Outros fatores como as condições sazonais do habitat, a idade, o gênero, o estado nutricional e o uso de anestésicos, podem contribuir para estas variações (DUGUY, 1970; WOJTASZEK, 1991; CAMPBELL, 2006).

Existem poucos estudos sobre os padrões hematológicos de serpentes, principalmente as sul-americanas (TROIANO et al., 1997). Esta informação torna-se essencial para reconhecer alterações sangüíneas em animais doentes, identificar células inflamatórias em tecidos lesados e entender o papel de vários tipos celulares durante o processo infeccioso (ALLEMAN; JACOBSON; RASKIN, 1999). Segundo Hawkey e Dennett (1989), a leitura de um esfregaço de sangue é a parte mais importante de um exame sangüíneo. Em animais muito pequenos, onde a quantidade de sangue é diminuta, este pode ser o único procedimento utilizado.

Na descrição de leucócitos e trombócitos circulantes leva-se em conta, além da forma e tamanho das células e de seus constituintes, a característica tintorial destes. As colorações mais utilizadas para esta finalidade contêm corantes azurofílicos que reagem com grupamentos ácidos, e eosinofílicos que reagem com grupamentos básicos da célula (HAWKEY; DENNETT, 1989; RAMOS, 1992).

Os trombócitos e linfócitos também são similares entre as várias espécies, porém em alguns répteis, a distinção entre os dois tipos celulares pode ser difícil. Embora exista uma diferença morfológica apreciável entre as células da série granulocítica e monocítica, é importante caracterizar os tipos celulares das várias espécies de interesse. Em adição, o número relativo de vários leucócitos (linfócitos, heterófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e azurófilos) no sangue varia consideravelmente entre diferentes espécies de répteis. Assim, os azurófilos são leucócitos comumente observados em Squamata (serpentes e lagartos) e Crocodilia (jacarés, crocodilos e gaviais), mas são apenas ocasionalmente encontrados em Chelonia (tartarugas, cágados e jabutis). Por outro lado, os eosinófilos são observados comumente em Crocodilia e Chelonia, porém a existência deste leucócito no sangue de diferentes Squamata, particularmente serpentes, é controversa (ALLEMAN; JACOBSON; RASKIN, 1999).

Montali (1988), em revisão sobre patologia comparada da inflamação, afirma que monócitos e linfócitos circulantes são morfológicamente semelhantes entre os vertebrados superiores, porém existe considerável heterogeneidade em relação à série granulocítica, principalmente entre os répteis.

De acordo com Montali (1988) e Hawkey e Dennett (1989), em tartarugas e crocodilianos, os heterófilos periféricos apresentam núcleo único oval ou raramente bilobado em posição periférica, com cromatina densa e citoplasma com grânulos fusiformes

eosinofílicos, enquanto em Squamata, o heterófilo possui núcleo redondo ou multilobado com grânulos citoplasmáticos angulares ou pleomórficos que se coram eosinofílicamente.

Investigações minuciosas sobre a morfologia de vários tipos de células foram feitas desde o princípio do século. Em vários grupos de répteis, foram descritas células da linhagem granulocítica contendo grânulos que apresentavam em alguns elementos a forma esférica, enquanto em outros eram fusiformes. Essa diferença de forma levou a considerações citogenéticas, havendo autores que admitiam ser uma mesma célula em diferentes estágios evolutivos de maturação, enquanto outros preferiam considerar estas células portadoras de granulações diferentes como entidades citogenéticas distintas. Esta última idéia encontrou suporte nos estudos realizados por Ryerson (1943), que demonstrou que estes elementos com grânulos fusiformes eram fisiologicamente semelhantes aos heterófilos das aves.

De acordo com Azevedo, Casaletti e Lunardi (2002), a espécie de tartaruga *Chrysemys dorsalis*, possui dois tipos de granulócitos que se coram eosinofílicamente quando tratados com Giemsa. Seus estudos morfológicos e histoenzimológicos demonstraram tratar-se de células distintas, com características similares aos eosinófilos e heterófilos/neutrófilos de aves e mamíferos.

O reconhecimento e classificação dos leucócitos no sangue periférico de serpentes podem apresentar problemas por causa da variação morfológica das células de animais desta Ordem e porque diferentes nomenclaturas tem sido utilizadas para descrever estas células (SYPEK; BORYSENKO, 1988; BOUNOUS et al., 1996). As controvérsias continuam sobre a nomenclatura dos leucócitos, e pouco se sabe sobre as características citológicas específicas ou função destas células. Atualmente, leucócitos no sangue periférico de serpentes e outros répteis são geralmente descritos como azurófilos, heterófilos, linfócitos, basófilos, monócitos e eosinófilos (DOTSON; RAMSAY; BOUNOUS, 1995; BOUNOUS et al., 1996). Todavia, alguns pesquisadores usam o termo acidófilo para incluir os heterófilos e eosinófilos (KELENYI; NEMETH, 1969; BOUNOUS et al., 1996).

Wallach e Boever (1983) e Frye (1991), reconhecem ainda um terceiro tipo de granulócito, o neutrófilo, que é descrito possuindo núcleo não segmentado, e citoplasma contendo grânulos basofílicos, eosinofílicos e azurofílicos. Entretanto, MacMahon e Hamer (1975) e Wojtaszek (1991) também denominam de neutrófilos, as características morfológicas de células que são compatíveis com os heterófilos.

2.2.1 Células Sangüíneas

As células sangüíneas circulantes de répteis podem ser agrupadas em glóbulos vermelhos (eritrócitos ou hemácias), glóbulos brancos (leucócitos) e trombócitos (análogos às plaquetas dos mamíferos). Os eritrócitos são morfológicamente similares entre as várias espécies de répteis, apresentando-se ovais e nucleados e representando a maior parte das células sangüíneas circulantes (ALLEMAN; JACOBSON; RASKIN, 1999).

2.2.1.1 Eritrócitos

Os eritrócitos são o tipo celular mais abundante em esfregaços de sangue periférico. Os eritrócitos maduros dos répteis são nucleados, elípticos e de bordas arredondadas, e são maiores que os eritrócitos de mamíferos e aves (CAMPBELL, 2006). Possuem um núcleo basofílico localizado centralmente. O núcleo pode ter uma forma irregular, mas tende a ser oval com um fino padrão de cromatina (DOTSON; RAMSAY; BOUNOUS, 1995; MOURA et al., 1999). Em condições normais, os eritrócitos respondem por aproximadamente 40% de todo o volume sangüíneo.

A contagem de eritrócitos em répteis varia intraespecífica e interespecificamente, mostrando alteração com a idade, sexo, estado nutricional e ocorrência de doenças (JACOBSON, 1984; GARCIA-NAVARRO; PACHALY, 1994). Durante o processo de ecdise sempre há uma ligeira desidratação, a qual aumenta o valor do hematócrito (SILVESTRE, 2003).

Eritrócitos imaturos são ocasionalmente vistos no sangue periférico de répteis, especialmente em animais jovens e que estão para fazer ecdise. Os eritrócitos imaturos são células irregulares a redondas com núcleo grande redondo e citoplasma basofílico. São constituintes normais do sangue dos répteis, representando 1,5 a 2,5% da população de células vermelhas (CAMPBELL, 2006).

A presença de formas anômalas de eritrócitos no sangue pode estar associada a doenças autoimunes ou infecções crônicas, enquanto a observação de inclusões intracitoplasmáticas mostra-se relacionada a infecções virais. Os répteis são também acometidos por hemoparasitas, protozoários e filárias que podem ser verificados tanto no interior quanto no exterior dos eritrócitos (FRYE, 1991).

Os répteis têm um número menor de eritrócitos circulantes do que as aves ou os mamíferos. Existe uma relação inversa entre o tamanho do eritrócito e o número total de células circulantes. Enquanto o volume corpuscular médio diminui (tartarugas→serpentes→lagartos), o número total de células circulantes aumenta (lagartos→serpentes→tartarugas) (MADER, 2000).

2.2.1.2 Leucócitos

Os leucócitos são células que desempenham suas funções nos processos inflamatórios e imunológicos, constituindo-se nos chamados elementos celulares da inflamação (CAMPBELL, 1996). Em serpentes observa-se que antes da ecdise se produz uma leucocitose, enquanto que durante e depois da muda se observa leucopenia (SILVESTRE, 2003). Segundo Campbell (1996), em serpentes o número de leucócitos totais varia de $6-12 \times 10^3$ cel/ μ l.

2.2.1.2.1 Linfócitos

Os linfócitos dos répteis são semelhantes aos dos mamíferos e aves. Variam, em seu tamanho, de pequenos a grandes. São células redondas que podem exibir margens irregulares. Possuem um núcleo redondo a levemente indentado, posicionado centralmente. O linfócito típico possui uma alta razão Núcleo:Citoplasma. O citoplasma é homogêneo sem vacúolos ou grânulos (HAWKEY; DENNETT, 1989; STEFFENS III, 2000; CAMPBELL, 2006).

O número absoluto de linfócitos circulantes pode variar de acordo com a espécie, idade, sexo, estação do ano, estado nutricional, presença de hemoparasitas, metazoários e na vigência de processos inflamatórios crônicos (FRYE, 1991). Linfocitose pode ocorrer em casos de inflamação, ferida em cicatrização, doenças virais e algumas infecções parasitárias (MADER, 2000).

Em serpentes e lagartos, o número de linfócitos torna-se significativamente elevado durante os períodos de ecdise. Em termos gerais, os linfócitos podem representar de 15 a 89% da contagem total de leucócitos (GARCIA-NAVARRO; PACHALY, 1994). São o tipo celular mais comumente encontrado dentre os leucócitos (MACMAHON; HAMER, 1975).

Na microscopia eletrônica de transmissão, o citoplasma dos linfócitos é escasso e apresenta-se pobre em organelas, contendo moderada quantidade de ribossomos livres. O nucléolo encontra-se evidente (Ramos, 1992). De acordo com Ramos (1997), os estudos imunológicos disponíveis mostram uma tendência geral à aceitação de que entre os répteis existam pelo menos duas subpopulações de linfócitos com funções de mediação das respostas humoral celular.

2.2.1.2.2 Monócitos

Os monócitos são células esféricas com núcleo ovalado, riniforme ou em ferradura. Normalmente são maiores e possuem núcleo mais claro que os linfócitos e representam de 0,5 a 3,0% do total de leucócitos (HAWKEY; DENNETT, 1989). Segundo Campbell (2006), os monócitos de serpentes freqüentemente têm um núcleo redondo a oval e contém grânulos azurofílicos em abundância. Embora os monócitos que possuem uma aparência azurofílica no citoplasma sejam freqüentemente chamados de azurófilos na literatura, suas características citoquímicas e ultra-estruturais são similares aos monócitos de mamíferos e tem sido reportado tanto como monócitos quanto como um tipo celular separado.

De acordo com Frye (1991), estas células compõem o sistema mononuclear fagocitário, sendo freqüente o achado de monócitos fagocitando bactérias, debris celulares e outros materiais particulados. A monocitose usualmente sugere um processo infeccioso

crônico. Em casos de processos granulomatosos de etiologias variadas, a contagem de monócitos aumenta consideravelmente.

2.2.1.2.3 Azurófilos

Os azurófilos são encontrados apenas em répteis, ocorrendo em pequenas quantidades em lagartos, crocodilos e quelônios, e em grande número em serpentes. Seu formato é predominantemente esférico, podendo variar de pequeno a grande. Pouco se sabe sobre a origem ou função destas células, podendo-se afirmar apenas que o aumento no número ou alteração nas características morfológicas são indicativos de processo infeccioso (MONTALI, 1988; HAWKEY; DENNETT, 1989).

Os granulócitos azurófilos apresentam grande polimorfismo citológico, dando origem às denominações mais variadas. Monócitos e azurófilos são considerados a mesma célula por alguns autores (BOUNOUS et al., 1996; ALLEMAN; JACOBSON; RASKIN, 1999), porém diferentes para outros (SALAKIJ et al., 2002c; MARTINEZ-SILVESTRE et al., 2005). Estas células possuem a motilidade típica dos monócitos de mamíferos, com um alto grau de fagocitose e reagem especificamente a injeções de terebentina, como Ryerson (1943) observou nos heterófilos de tartarugas, em seus estudos histoquímicos.

2.2.1.2.4 Heterófilos

De acordo com Sypek e Borysenko (1988) e Cannon, Freed e Freed (1996), o termo heterófilo é aplicado aos granulócitos que possuem grânulos fusiformes a pleomórficos, o oposto dos eosinófilos, que possuem grânulos uniformemente esféricos.

Segundo Campbell (2006), os heterófilos dos répteis são geralmente células redondas com grânulos citoplasmáticos fusiformes eosinofílicos (laranja brilhante). O citoplasma dos heterófilos normais é incolor. O núcleo dos heterófilos maduros é tipicamente redondo a oval e posicionado excentricamente na célula, com um agrupamento denso de

cromatina nuclear. Algumas espécies de lagartos possuem heterófilos com o núcleo lobado. Os grânulos dos heterófilos dos répteis são usualmente peroxidase negativos, exceto para algumas espécies de lagartos e serpentes. Os heterófilos do iguana verde (*Iguana iguana*) são similares aos neutrófilos de mamíferos porque coram fortemente positivo com benzidina peroxidase. Em adição, os heterófilos dos répteis não se coram com fosfatase alcalina.

Os heterófilos possuem importante papel na defesa do organismo contra patógenos invasores, assumindo o papel fagocítico desempenhado pelos neutrófilos nos mamíferos, realizando processos de quimiotaxia, opsonização, ingestão e lise. Costumam representar de 20 a 40 % da contagem total de leucócitos, podendo ser maior em casos de infecções bacterianas e fúngicas, dano tecidual e estresse (HAWKEY; DENNETT, 1989; FRYE, 1991; GARCIA-NAVARRO; PACHALY, 1994). Neoplasias, em especial leucemia mielóide, também têm sido descritos como causadores de heterofilia (MADER, 2000).

2.2.1.2.5 Eosinófilos

Os granulócitos eosinófilos têm merecido atenção especial em hematologia comparada de répteis. Vários autores detectaram a presença de dois tipos de granulações eosinófilas, as fusiformes e as esféricas. Alguns autores consideraram estas duas formas de granulócitos como originárias de uma única série citogenética, baseados nas observações ocasionais de células contendo grânulos esféricos e fusiformes (SANO-MARTINS, 1978). Por outro lado, Taylor, Kaplan e Hirano (1963), através de estudos de microscopia eletrônica, confirmaram os achados de Ryerson (1943) de que os heterófilos e eosinófilos são tipos celulares diferentes.

Admite-se que os eosinófilos fagocitem e destruam determinados complexos antígeno-anticorpo, limitando e circunscrevendo o processo inflamatório. Os eosinófilos são assim chamados pela presença de granulações ovóides em seu citoplasma que se coram intensamente pela eosina (granulações acidófilas). Na microscopia eletrônica de transmissão possui grânulos típicos com uma parte central discóide elétron-densa. Em volta dessa parte central (*internum*) nota-se uma matriz (*externum*) envolvida por membrana. O principal componente do *internum* (cristalóide) é uma proteína básica, rica em arginina, que é

responsável por sua acidofilia. Possui ainda lisossomos (grânulos específicos) e retículo endoplasmático, mitocôndrias e complexo de Golgi pouco desenvolvidos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Porém, de acordo com Montali (1988), a nível ultra-estrutural, o padrão cristalóide típico dos eosinófilos de mamíferos não é observado em répteis.

Ainda segundo Montali (1988), o eosinófilo possui núcleo único ou bilobado com grânulos citoplasmáticos eosinofílicos esféricos. Frye (1991) refere ainda que este núcleo é excentricamente deslocado.

O aumento de eosinófilos circulantes está associado à presença de infecções parasitárias e a processos alérgicos em mamíferos. Em répteis, geralmente o número de eosinófilos varia de 7 a 20% do total de leucócitos (FRYE, 1991).

2.2.1.2.6 Basófilos

Os basófilos são caracterizados pela presença de grande quantidade de grânulos basofílicos citoplasmáticos, sendo que tais grânulos podem até mesmo impedir a visualização do núcleo celular. Seus grânulos são muito elétron-densos e freqüentemente contêm filamentos ou partículas alongadas (MONTALI, 1988; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Acredita-se que estas células estejam envolvidas com processos alérgicos, possuindo receptores para imunoglobulina E. Representam de 0 a 4% do total de leucócitos, variando de acordo com a espécie, estação do ano (diminuição em períodos de hibernação) e presença de hemoparasitas (FRYE, 1991; CAMPBELL, 1996).

Possui uma membrana plasmática bem definida com numerosas microvilosidades. O citoplasma possui algumas áreas eletron-luscentes, grânulos basofílicos, numerosos ribossomos, polirribossomos e grânulos de glicogênio. Pode apresentar microtúbulos. Os grânulos com membranas que parecem homogêneos em menor aumento, em maior aumento, consistem de finos grânulos, fibrilas ou lamelas (STEFFENS III, 2000).

2.2.1.3 Trombócitos

Os trombócitos estão relacionados ao sistema hemostático, sendo análogos às plaquetas de mamíferos. As características estruturais e a origem dos trombócitos são completamente diferentes entre mamíferos e não mamíferos, embora a contribuição dos trombócitos na hemostasia seja comum a todos os vertebrados. (DAIMON; GOTOH; UCHIDA, 1987). Os trombócitos dos mamíferos (plaquetas sangüíneas) são corpúsculos pequenos não nucleados derivados dos megacariócitos polimorfonucleares, enquanto os trombócitos dos demais vertebrados são células fusiformes nucleadas que tem como antecedente tromboplastos mononucleados (DAIMON; GOTOH; UCHIDA, 1987). Possuem forma elíptica e tamanho geralmente menor que o dos eritrócitos. Segundo alguns autores, são capazes de fagocitar bactérias, resíduos celulares e fragmentos da hemoglobina (GARCIA-NAVARRO; PACHALY, 1994). Quando ativados possuem formato arredondado, com núcleo denso arredondado ou oval. A ativação do trombócito leva a vacuolização citoplasmática, alterações de contorno e agregação. Acredita-se que a ocorrência de trombocitose pode ser indicativa de hemorragia ou infecção bacteriana, enquanto a presença de trombócitos ativados sugere processos de coagulação intravascular disseminada (HAWKEY; DENNETT, 1989). Os trombócitos também são denominados de células fusiformes (“spindle cell”) (TAYLOR; KAPLAN, 1961).

A banda marginal de microtúbulos tem a função primária de manter a forma elíptica do trombócito. O sistema de canais conectados é uma forma de amplificar a área de contato do plasmalema, aumentando a eficiência da organela na troca de metabólitos da célula com o meio extracelular (DAIMON; GOTOH; UCHIDA, 1987).

Segundo Ramos (1992), observou-se a presença de trombócitos no foco inflamatório induzido por corpo estranho em tartarugas tigre d’água, sugerindo-se que estas células participem do processo inflamatório.

2.2.2 Índices Hematimétricos

Os índices hematimétricos determinam o tamanho (volume globular médio) e coloração (concentração de hemoglobina corpuscular média) do eritrócito. Obtemos estes dados a partir dos resultados da hematimetria, do hematócrito e da hemoglobinometria (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007).

2.2.2.1 Volume Globular ou Hematócrito

O volume globular, também chamado de relação glóbulo-plasmática ou valor de hematócrito (ht), nada mais é do que a verificação do volume ocupado pelos eritrócitos numa amostra de sangue (COLES, 1986). Segundo Campbell (2006), a relação glóbulo-plasmática na maioria dos répteis é de aproximadamente 30% (20 a 40%). Dessa forma, um hematócrito menor que 20% é sugestivo de anemia e valores maiores que 40%, sugerem tanto hemoconcentração quanto eritrocitose (policitemia).

2.2.2.2 Determinação da Concentração de Hemoglobina

A concentração normal de hemoglobina em répteis varia de 6 a 12g/dl. O número de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito variam com diversos fatores como meio ambiente (número de eritrócitos maior antes de hibernação e menor imediatamente após hibernação), estado nutricional e gênero (machos tendem a ter valores maiores de hemácias que as fêmeas) (CAMPBELL, 2006).

2.2.2.3 Cálculo dos Índices Hematimétricos

Usando os valores obtidos com a hematimetria, concentração de hemoglobina e volume globular, pode-se calcular o volume de um eritrócito médio e sua concentração de hemoglobina. A determinação dos índices hematimétricos é de particular importância para a determinação do tipo morfológico das anemias (CAMPBELL, 1996).

A- VCM: Volume Corpuscular Médio é a expressão do valor médio do volume de hemácias.

$VCM = ht \times 10 / he$, expresso em fl

B- HCM: Hemoglobina Corpuscular Média expressa a quantidade média de hemoglobina nas hemácias. $HCM = hb \times 10 / he$, expressa em pg

C- CHCM: Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média, determina a proporção de hemoglobina na média de hemácias. $CHCM = hb \times 100 / ht$, Expressa em %

O VCM da maioria das células vermelhas sangüíneas de répteis varia entre 200 a 1200 fl. A média para CHCM em répteis é de 30% (22 a 41%) (CAMPBELL, 2006).

2.3 BIOQUÍMICA SANGÜÍNEA: CONSIDERAÇÕES GERAIS

As análises bioquímica e enzimática do sangue, combinadas com outros exames laboratoriais, exame físico completo e histórico clínico do paciente, são importantes instrumentos para o diagnóstico das diversas enfermidades que podem acometer os répteis. Dentre as principais que podem ser realizadas, destacam-se as seguintes:

2.3.1 Aspartato Aminotransferase (AST)

A enzima aspartato aminotransferase, anteriormente conhecida como transaminase glutâmico oxalacético (TGO), presente em todos os tecidos do organismo, especialmente a musculatura esquelética e o fígado, têm seus níveis aumentados na presença de lesões hepáticas ou em células musculares estriadas esqueléticas e cardíacas. Doenças generalizadas como septicemia ou toxemia, entretanto, podem lesar estes tecidos e determinar elevações da atividade plasmática dessa transaminase devido à necrose celular generalizada (MESSONNIER, 1996; ALMOSNY; MONTEIRO, 2007). Segundo Silvestre (2003), há um aumento dos níveis de AST no sangue na vigência de processos infecciosos.

2.3.2 Alanina Aminotransferase (ALT)

A alanina aminotransferase, também conhecida por transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), tem seus níveis séricos aumentados na presença de lesões hepatocelulares causadas, por exemplo, por toxemia ou hipóxia. Portanto quanto mais extensa a lesão, mais elevados os níveis de ALT. Todavia, a ALT não é um indicador sensível no diagnóstico da doença hepática em répteis (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007).

2.3.3 Fosfatase Alcalina

A fosfatase alcalina está presente em altas concentrações nos ossos (osteoblastos), mucosa intestinal, células tubulares renais, fígado e placenta. O aumento de níveis séricos desta enzima é indicativo de estase biliar e/ou lesões em tecido ósseo (CAMPBELL, 1996). Existem poucas informações sobre a interpretação da elevação da atividade sérica da fosfatase alcalina em répteis, sabe-se, entretanto, que essas elevações podem refletir atividade osteoblástica. A fosfatase alcalina não é órgão-específica e está

amplamente distribuída no corpo dos répteis (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007). Durante um processo infeccioso, a fosfatase alcalina pode estar aumentada (SILVESTRE, 2003).

2.3.4 CK- Creatinoquinase

A enzima creatinoquinase, com suas três isoenzimas CK-MM (tipo músculo), CK-MB (tipo miocárdio) e CK- BB (tipo cérebro), é encontrada no músculo esquelético, miocárdio, cérebro e músculos lisos (CAMPBELL, 2006). É uma enzima bastante específica para a avaliação de danos musculares em mamíferos, aves e répteis. Normalmente a elevação da concentração plasmática de CK reflete lesão muscular e pode ocorrer após injeções intramusculares e infecções sistêmicas que afetam os músculos esquelético ou cardíaco (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007).

Elevações na atividade dessa enzima são freqüentemente observadas em animais que se debatem e fazem esforço na hora da contenção e colheita de sangue (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007).

2.3.5 Glicose

A concentração normal de glicose no sangue de répteis varia de acordo com a espécie, estado nutricional e condições ambientais. Há uma variação sazonal normal. Os valores variam de 60 a 100mg/dl (CAMPBELL, 1996).

Hipoglicemia pode ser observada em casos onde o animal deixa de se alimentar, má nutrição, dietas altamente protéicas, hepatopatia severa, septicemia e endocrinopatias (MESSONNIER, 1996; ALMOSNY; MONTEIRO, 2007). As hiperglicemias de répteis são, geralmente, iatrogênicas por administração excessiva de glicose ou ainda de glicocorticóides. O diabetes mellitus também é descrito nestes animais que, quando acometidos, fazem hiperglicemia e glicosúria (CAMPBELL, 1996; ALMOSNY; MONTEIRO, 2007).

2.3.6 Creatinina

Os valores normais de creatinina em répteis são, de maneira geral, bem baixos (<1mg/dL). Os valores de creatinina em répteis, podem se elevar em casos de desidratação severa e doença renal. Todavia, este parâmetro não é considerado um bom teste diagnóstico para doenças renais (CAMPBELL, 1996).

2.3.7 Ácido Úrico

O ácido úrico é o produto primário final do catabolismo de proteínas, nitrogênio não protéico e purinas em répteis terrestres e representa 80 a 90% do nitrogênio total excretado pelos rins (CAMPBELL, 2006). A hiperuricemia pode ser causada, entre os diversos motivos, por desidratação ou lesão renal grave, com perda de mais da metade da massa renal e dietas altamente protéicas (FRYE, 1991; MESSONNIER, 1996). Em casos de hiperuricemia pode ocorrer a deposição de microcristais de ácido úrico em rim, fígado, saco pericárdico e articulações, dando origem ao processo de gota. Em répteis, a concentração sérica de ácido úrico pode variar de 0 a 10 mg/dl (MESSONNIER, 1996). Em répteis carnívoros esta concentração se eleva até 2 vezes no período pós-prandial (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007).

2.3.8 Uréia

Os répteis são animais primariamente uricotélicos, portanto a concentração de uréia no sangue destes animais é relativamente baixa, menor de 10 mg/dl. A elevação dos valores normais pode ser observada na vigência de nefropatias e azotemia pré-renal (CAMPBELL, 1996).

2.3.9 Colesterol

O aumento nos níveis de colesterol tem sido associado com a vitelogênese (CALLE et al., 1994; LAMIRANDE et al., 1999). Segundo Silvestre (2003), devido à ação da tireóide durante o período de ecdise, há diminuição do nível de colesterol.

2.3.10 Cálcio

O metabolismo do cálcio sanguíneo e a quantidade de cálcio ionizado no plasma dos répteis é mediado pelo paratohormônio (PTH), calcitonina e vitamina D₃ ativada. Outros hormônios, como o estrógeno, tiroxina e glucagon, também podem influenciar o metabolismo do cálcio em répteis (CAMPBELL, 2006).

A hipercalcemia é observada em fêmeas em período reprodutivo, em dietas ricas em cálcio e vitamina D₃, hiperparatireoidismo primário e lesões osteolíticas. Por outro lado, a hipocalcemia é observada em dietas desbalanceadas em cálcio, vitamina D₃ e fósforo, e em doenças renais (MESSONNIER, 1996).

2.3.11 Fósforo

O fósforo está presente no sangue sob a forma de éster no interior dos eritrócitos ou como fosfolípídio e fosfato inorgânico no plasma (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007). A hiperfosfatemia pode estar relacionada à redução de taxa de filtração glomerular, hipervitaminose D₃, hipoparatireoidismo, e dieta com excesso de fósforo. A hipofosfatemia, por sua vez, pode ser causada por hipovitaminose D₃, má absorção ou desnutrição, e carência de fósforo na dieta (MESSONNIER, 1996; CAMPBELL, 2006).

2.3.12 Proteínas Plasmáticas Totais (PPT)

Entende-se por dosagem de proteínas plasmáticas totais, a dosagem de albumina e globulina. A albumina representa de 40 a 60% do total de proteínas plasmáticas, sendo importante na manutenção da pressão osmótica. As globulinas são subdivididas em alfa, beta e gama globulinas (CAMPBELL, 2006). Em processos infecciosos se elevam os valores de proteínas totais (gamaglobulinas e alfa globulinas) (SILVESTRE, 2003).

A hipoproteinemia em répteis está freqüentemente associada com má nutrição. Todavia, outras causas incluem má absorção, má digestão (associada a parasitismo intestinal), perda severa de sangue e doença crônica hepática ou renal. A hiperproteinemia ocorre em casos de hemoconcentração (desidratação) ou elevação das globulinas associadas com doença inflamatória crônica (CAMPBELL, 1996).

3 OBJETIVOS

Bothrops jararaca

3 OBJETIVOS

Considerando de um lado a inexistência de padrões hematológicos de normalidade claramente definidos para diversas serpentes brasileiras, e de outro a necessidade do conhecimento de parâmetros fisiológicos para a adequada compreensão dos processos mórbidos que podem comprometer tanto a manutenção em cativeiro dos animais assim como a própria conservação “in situ” destes importantíssimos elementos das cadeias tróficas tropicais, os objetivos gerais e específicos deste estudo foram:

3.1 OBJETIVO GERAL

Fornecer um painel hematológico geral para serpentes representativas da Família Viperidae existentes no Brasil e mantidas em cativeiro no Instituto Butantan, incluindo as espécies *Bothrops jararaca*, *B. jararacussu*, *B. alternatus*, *B. neuwiedi*, *B. moojeni* e *Crotalus durissus*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar os padrões hematológicos normais, ou seja, valores hematimétricos e principais parâmetros bioquímicos séricos das referidas espécies.
- ✓ Avaliar, através de microscopia de luz e microscopia eletrônica de transmissão, as características citológicas, ultra-estruturais e citoquímicas dos leucócitos das referidas espécies.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Bothrops jararacussu

4 MATERIAL E MÉTODOS

A seguir serão apresentados o material e a metodologia utilizada.

4.1 ANIMAIS

Para o estudo comparativo entre as espécies de Viperídeos mantidas em cativeiro no Laboratório de Herpetologia – Seção de Venenos - do Instituto Butantan, foram utilizadas 173 serpentes clinicamente saudáveis (com base na rotina alimentar, comportamento, sucesso na realização de ecdise e condição corpórea), dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus* em quantidade e sexo conforme a disponibilidade do plantel do referido laboratório, de acordo com o que se segue: 15 *Bothrops alternatus* (10 fêmeas e 5 machos); 28 *B. jararaca* (16 fêmeas e 12 machos); 15 *B. jararacussu* (10 fêmeas e 5 machos); 10 *B. moojeni* (7 fêmeas e 3 machos); 9 *B. neuwiedi* (5 fêmeas e 4 machos); 21 *Crotalus durissus collilineatus* (10 fêmeas e 11 machos) e 49 *C. d. terrificus* (29 fêmeas e 20 machos) (Quadro 1).

Espécie	Fêmeas	Machos	n
<i>B. alternatus</i>	10	5	15
<i>B. jararaca</i>	16	12	28
<i>B. jararacussu</i>	10	5	15
<i>B. moojeni</i>	7	3	10
<i>B. neuwiedi</i>	5	4	9
<i>C. d. collilineatus</i>	10	11	21
<i>C. d. terrificus</i>	29	20	49

Quadro 1 - Número de animais utilizados, distribuídos por espécie e sexo. Instituto Butantan - São Paulo – 2001

4.2 MANUTENÇÃO EM CATIVEIRO

Tanto no período de quarentena como nas salas de produção de veneno, as serpentes eram mantidas em salas climatizadas, com temperatura em torno de 27°C ($\pm$ 2°C) e

umidade relativa em torno de 60% (Figura 10), individualizadas, em caixas plásticas (60 x 40 x 15cm) com papelão corrugado como substrato e água *ad libitum* (Figura 11). Os animais passavam por uma inspeção diária e, quando necessário, as caixas sujas eram limpas e a água trocada. A alimentação era constituída de camundongos (*Mus musculus*) e ratos (*Rattus norvegicus*), de acordo com o tamanho da serpente, criados no Biotério Central do Instituto Butantan. A alimentação era oferecida mensalmente, uma semana após a extração de veneno. Nem todas as serpentes sofriam o processo de extração mensal, porém eram alimentadas mensalmente.

A extração de veneno ocorre na própria sala onde os animais são mantidos. Para tornar a extração de veneno mais segura para o extrator e com um menor desperdício de veneno, desde 1984 as serpentes são sedadas em dióxido de carbono antes de serem submetidas à extração, conforme procedimento aprovado pela Comissão de Ética de Uso de Animais do Instituto Butantan (GREGO, 2006).

Figura 10 – Sala de produção de venenos do Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan

Figura 11 – Caixas plásticas com substrato de papelão corrugado e água. Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan

Foram utilizados animais de procedências variadas, principalmente do Sudeste e Sul do Brasil, assim como animais nascidos em cativeiro. O quadro 2 apresenta a procedência e períodos mínimo e máximo de cativeiro, distribuídos em função da espécie.

Especie	Procedência (n)	Períodos Mínimo e Máximo de Cativeiro	Especie	Procedência (n)	Períodos Mínimo e Máximo de Cativeiro
B. alternatus	Ribeirão Preto - SP (1) Machado - MG (1) Pouso Alto - MG (1) Motuca - SP (1) Uruguaiana - RS (1) Nascidos em cativeiro no IB (9) Sem procedência (1)	10 meses a 7anos e 6 meses	C. d. collilineatus	Catanduva - SP (1) Vazante - MG (2) Bastos - SP (1) Lins - SP (2) Goianésia - GO (2) Catalão - GO (1) Quatá - SP (1) Rio Verde - GO (1) Araraquara - SP (1) Taquaritinga - SP (1) Serra da Mesa - TO (1) Jataí - GO (1) Nascidas em cativeiro no IB (5) Sem procedência (1)	11 meses a 11 anos e 4 meses
B. jararaca	Itaquaquecetuba - SP (1) UNIBIO - União P/ Pesquisa Biológica (1) Cotia - SP (1) Perus - SP (1) Embu - SP (1) Pomerode - SC (1) São Bento do Sul - SC (8) Iguape - SP (1) Porto União - SP (2) Nascidas em cativeiro no IB (11)	1 ano e 2 meses a 8 anos e 1 mês	C. d. terrificus	Lorena - SP (2) Jacutinga - MG (1) Itú - SP (4) Ribeirão Preto - SP (2) Amparo - SP (1) Bauru - SP (1) Colômbia - SP (1) Curitiba - PR (2) São Paulo - SP (1) Barueri - SP (1) Itapira - SP (1) Ouro fino - MG (1) Pirassununga - SP (1) Copel - PR (1) Jundiaí - SP (1) Cabreúva - SP (1) São Pedro - SP (1) Descalvado - SP (2) Nascidas em cativeiro no IB (16) Sem procedência (8)	1 ano e 1 mês a 11 anos e 2 meses
B. jararacussu	Ibiúna - SP (1) Ilha Bela - SP (1) Ilha Anchieta - SP (2) Pomerode - SC (1) Nascidas em cativeiro no IB (10)	1 ano e 4 meses a 9 anos e 11 meses			
B. moojeni	Serra da Mesa - GO (3) Araraquara - SP (2) Iturama - MG (1) Patrocínio Paulista - SP (1) Nascidas em cativeiro no IB (2) Sem procedência (1)				
B. neuwiedi	Congonhas - MG (1) Aiuruóca - MG (1) Munhoz - MG (1) Nascidas em cativeiro no IB (6)	9 meses a 8 anos			

Quadro 2 - Distribuição da procedência, respectivas quantidades de indivíduos e períodos mínimo e máximo de cativeiro por espécie de Viperídeo. Instituto Butantan - São Paulo – 2001

Foram utilizados animais jovens e adultos que variaram de 65,0 a 2.970,0 gramas, conforme quadro abaixo (Quadro 3).

Espécie	Macho Jovem	Macho Adulto	Fêmea Jovem	Fêmea Adulta
<i>B. alternatus</i>		210 - 400 (5)		490 - 1990 (10)
<i>B. jararaca</i>		100 - 225 (12)	215 - 305 (2)	310 - 820 (14)
<i>B. jararacussu</i>	200 - 210 (2)	225 - 395 (3)	150 - 200 (3)	350 - 1500 (7)
<i>B. moojeni</i>		255 - 540 (3)	140 (1)	300 - 1030 (6)
<i>B. neuwiedi</i>		135 - 285 (4)		285 - 1070 (5)
<i>C. d. collilineatus</i>		1060 - 2010 (11)		730 - 2970 (10)
<i>C. d. terrificus</i>	460 (1)	525 - 1920 (19)	245 (1)	560 - 2550 (28)

Quadro 3 - Peso em gramas e número de serpentes utilizado (n) por espécie e por idade. Instituto Butantan - São Paulo - 2001

No momento da colheita, os animais estavam sem se alimentar por um período mínimo de 5 dias e máximo de 1 mês, e sem sofrer os procedimentos de extração por um mínimo de 5 dias e máximo de 3 meses.

As gaiolas, potes plásticos e a água são trocados sempre que necessário, lavados em salas apropriadas para a lavagem e desinfetados com hipoclorito de sódio a 4%. Anualmente todos os animais das salas de produção de venenos são vermifugados com ivermectina (0,2mg/Kg IM) e praziquantel (8mg/Kg IM) (GREGO, 2006).

Os animais foram contidos manualmente, com o auxílio do laço de Lutz, para evitar alterações decorrentes da contenção química (Figura 12).

4.3 COLHEITA DE MATERIAL

A colheita de sangue foi realizada através da punção da veia coccígea ventral (Figura 13), conforme proposto por Frye (1991), valendo-se de seringas plásticas descartáveis, sendo 0,5 ml acondicionados em tubo tipo eppendorf contendo heparina e 1,0 ml em tubo de ensaio sem aditivo para a obtenção de soro. As amostras sangüíneas foram imediatamente estocadas a 4°C e processadas em menos de 2 horas. As colheitas foram realizadas entre março e maio de 2001.

Figura 12 – Contenção física com laço de Lutz

Figura 13 – Colheita de sangue através da punção da veia coccígea ventral.

4.3.1 Parâmetros Hematológicos

Imediatamente após a colheita, esfregaços sangüíneos foram preparados, secos ao ar e corados com May-Grünwald-Giemsa modificado (ROSENFELD, 1947) para a contagem diferencial de leucócitos. Uma pequena alíquota de sangue (0,5ml) foi colocada em tubo “ependorf” contendo heparina para determinar parâmetros hematológicos, enquanto outra alíquota (1,0ml) foi colocada em tubo sem anticoagulante para obtenção do soro e subsequente análise bioquímica.

Para a contagem total de eritrócitos, leucócitos e trombócitos, 20µl de sangue total heparinizado foram diluídos em 4,0ml de solução isotônica de Natt e Herrick (1952), sendo a leitura realizada em câmara de Neubauer.

Os eritrócitos presentes em 5/25 casetas do retículo central foram contados com o auxílio de microscópio de luz em aumento de 400 vezes. O número total de eritrócitos foi obtido pela fórmula: N° de eritrócitos contados X 100 X 10 X 5 e expresso em células/mm³. Para os leucócitos e trombócitos foram contadas as células dos 16 quadrados simples localizados nos cantos da Câmara de Neubauer. O número de leucócitos e trombócitos totais foram obtidos pela fórmula: n°de leucócitos ou trombócitos contados X 100 X 10 X 0,25 e expresso em células/mm³.

A hemoglobina foi dosada através de kit Labtest® (Labtest Diagnóstica), obtida através da leitura colorimétrica da cianometahemoglobina (comprimento de onda de

540nm), cujo princípio consiste na oxidação da hemoglobina em metahemoglobina, misturando 20µl de sangue em 5 ml de solução de Drabkin (Labtest Diagnostica®).

Para a determinação do hematócrito foi utilizada a técnica do microhematócrito (COLES, 1986) que consiste no preenchimento com sangue total de um tubo capilar de 75,0 X 1,0mm heparinizado. Este tubo é vedado em uma de suas extremidades e centrifugado em microcentrífuga por 5 minutos a 10.000G. O volume de células aglutinadas foi então lido em cartão de hematócrito. Os índices hematimétricos, isto é, VCM, HCM e CHCM, foram obtidos através das fórmulas já citadas no item 2.2.2.3. da revisão de literatura.

Para as contagens diferenciais de leucócitos, 100 a 200 células foram contadas em microscópio de luz sob imersão em aumento de 1000X, e os diversos tipos de glóbulos brancos foram anotados com auxílio de contador digital múltiplo (Leucotron ®). Foi adotada a nomenclatura proposta por Alleman, Jacobson e Raskin (1999), que classifica os leucócitos circulantes de serpentes em linfócitos, azurófilos, heterófilos, heterófilos não corados e basófilos.

4.3.2 Parâmetros Bioquímicos

Os testes bioquímicos para cálcio, proteínas totais (PT), albumina, fosfatase alcalina (FA), fósforo e uréia foram feitos a partir de soro, através de testes colorimétricos específicos Labtest (Labtest Diagnóstica®) e medidos pelo espectofotômetro Labquest® (Labtest Diagnóstica®), de acordo com as instruções do fabricante. Para a determinação das enzimas alanina amino transferase (ALT), aspartato amino transferase (AST) e creatinoquinase (CK), glicose, creatinina, colesterol e ácido úrico (AU), foi utilizado sangue total heparinizado e medido em Reflotron ® (Roche).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados hematológicos foram avaliados estatisticamente para verificar normalidade através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Para avaliar as variações

interespecíficas dos diversos testes realizados foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis e o método de Dunn's. Para as comparações entre os sexos utilizou-se o teste de Mann Whitney. Todos os testes e gráficos foram realizados com o auxílio do software Graph Pad Prism versão 4.3 (Graph Pad Software, USA) e o nível de significância adotado foi de 0,05.

4.5 ESTUDO DAS REAÇÕES CITOQUÍMICAS

Para os estudos citoquímicos foram utilizados 5 animais, de ambos os sexos, mantidos em cativeiro para cada uma das seguintes espécies: *B. jararaca*, *B. jararacussu*, *B. neuwiedi*, *B. moojeni*, *B. alternatus* e *C. d. terrificus*.

As características citoquímicas foram avaliadas utilizando esfregaços de sangue, sem anticoagulante, secos ao ar. Para isso, utilizamos as seguintes reações citoquímicas: Sudan Black B (SBB) para a pesquisa de lipídeos, Ácido Periódico de Schiff (PAS) para a pesquisa de mucopolissacarídeos e Benzidina Peroxidase para a atividade de peroxidase, como descritos por Jain (1986).

As células positivas e negativas foram diferenciadas por meio da análise de 200 células em cada amostra fixada.

4.6 ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS ULTRA-ESTRUTURAIS

Para o estudo ultra-estrutural de células sangüíneas, foram utilizadas serpentes das espécies *B. jararaca* e *C. d. terrificus*.

As serpentes foram pesadas e anestesiadas com pentobarbital (Tiopental[®]), na dose de 30mg/kg por via subcutânea como descrito por Chudzinski, Seelaender e Kelen (1989). O sangue foi coletado pela aorta abdominal, por laparotomia, em uma seringa plástica descartável e acondicionado em um tubo plástico Falcon contendo 0,2% de glutaraldeído em Tampão Tyrode 0,1M (PH 7,2 a 7,4), por 15 minutos.

Após a fixação inicial, as amostras sangüíneas foram centrifugadas por 15 minutos (3.000G), retirando o sobrenadante e fixando novamente em solução de glutaraldeído

2% e paraformaldeído 4% em tampão Tyrode 0,1M, por 3 horas. O pellet de leucócitos foi solto e lavado 3 vezes sucessivamente em Tampão Tyrode 0,1M por 15 minutos cada. A seguir foi adicionada solução de tetróxido de ósmio (OsO_4) 1% por 1 hora, em temperatura ambiente, seguida de 3 lavagens com solução de cloreto de sódio (NaCl 0,75%), por 15 minutos cada e posterior adição de solução aquosa de acetato de uranila (UO_2) 1%, durante 2 horas em temperatura ambiente.

Após 3 lavagens sucessivas em solução de cloreto de sódio (NaCl 0,75%), por 10 minutos cada, o material foi então desidratado em baterias crescentes de álcool etílico (50 – 100%) e transferidos, posteriormente, para o óxido de propileno por 5 minutos.

A pré-embebição foi feita em uma mistura de óxido de propileno e resina EMBed-812 da seguinte forma: na proporção de 2:1 por 30 minutos, seguido de uma proporção de 1:1 por 1 hora, e de 1:2 por 30 minutos, em temperatura ambiente, com rotação. Posteriormente, o material foi colocado em resina EMBed-812 pura, “overnight”, em temperatura ambiente, com rotação.

Após a embebição, os fragmentos de pellet de células sangüíneas foram dispostos em moldes contendo resina de inclusão e levados à estufa a 60°C para polimerização, por 5 dias.

Cortes semi-finos de aproximadamente 0,5 μm foram obtidos, corados com azur II 1% em água destilada e azul de metileno 1% em solução aquosa com borato de sódio a 1% e, observados em microscópio de luz. Os cortes ultrafinos de aproximadamente 70nm, foram obtidos em ultramicrotomo MT6000 (Sorvall), contrastados em citrato de chumbo e então observados e fotografados em microscópio eletrônico de transmissão LEO 906E a 80 kv, no Laboratório de Biologia Celular do Instituto Butantan, segundo procedimentos descritos por Spadacci-Morena (1993).

4.7 FOTOMICROGRAFIAS

As imagens das características citológicas e citoquímicas foram obtidas em microscópio Olympus BX 51, utilizando o programa de captura de imagens Image Pro-Express Olympus.

5 RESULTADOS

Bothrops moojeni

5 RESULTADOS

Os resultados hematológicos, bioquímicos, morfológicos e citoquímicos serão apresentados a seguir.

5.1 PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS

Os valores hematológicos e bioquímicos estão apresentados nas tabelas 1 e 2, respectivamente. As diferenças estatísticas significantes para parâmetros hematológicos e bioquímicos, em função das espécies, estão identificadas nas tabelas 3 e 4, respectivamente. As diferenças estatísticas dos parâmetros hematológicos e bioquímicos entre os sexos, das espécies de *Bothrops* e *Crotalus* estão representadas nas tabelas 5 e 6, respectivamente. Os resultados hematológicos e bioquímicos individualizados e distribuídos por espécies estão apresentados nos anexos A a G. Os gráficos apresentam a mediana, valores máximos e mínimos, assim como 1º e 3º quartis.

Como pode ser observado nas tabelas 3 e 4, não foram encontradas diferenças estatísticas significantes, entre as espécies, para hemoglobina corpuscular média (HCM), volume corpuscular médio (VCM), contagem total de trombócitos (CTT), aspartato amino transferase (AST) e glicose.

Tabela 1 - Valores Hematológicos para espécies selecionadas de *Bothrops* e *Crotalus* mantidas em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001 - São Paulo - SP

Parâmetros Hematológicos	<i>B. alternatus</i> (n: 15)			<i>B. jararaca</i> (n: 25)			<i>B. jararacussu</i> (n: 15)			<i>B. moojeni</i> (n: 10)			<i>B. neuwiedi</i> (n: 9)			<i>C. d. collilineatus</i> (n: 21)			<i>C. d. terrificus</i> (n: 49)		
	M	Q1	Q3	M	Q1	Q3	M	Q1	Q3	M	Q1	Q3	M	Q1	Q3	M	Q1	Q3	M	Q1	Q3
CTE(10 ³ cels/mm ³)	430	350	530	310	255	415	340	280	460	215	175	230	450	330	575	425	390	455	420	365	500
CTL (10 ³ cels/mm ³)	4	1,5	6	4	2,75	7,5	2	1,5	3	2,25	1,37	4,12	3	1,25	5,75	1,75	0,6	3	2	1,5	5
HB (g/dL)	7,1	5,5	8,4	5,3	4,2	5,9	6,7	5,4	7,8	4,8	5,4	5,7	7,5	7,3	8,2	6,9	5,8	8	6,9	5,8	7,5
Ht (%)	27	22	30	19	16	22	24	20	28	14	9,75	20	24	22,5	25,5	25	21	30	24	21	27
VCM (fL)	629	509	816	593	493	667	600	571	750	638	519	826	464	417	611	589	559	634	560	50	643
HCM (pg)	173	129	221	154	136	180	159	151	204	229	149	299	143	135	189	167	140	181	158	141	186
CHCM (%)	27,9	24,6	29	26,8	24,6	28,4	27,7	26,8	29,1	35,2	29,3	41,3	32,3	30,5	35,9	26,9	25,1	28,9	28,7	26,9	29,6
Linfócitos (%)	77	66	89	59	49	72	50	58	70	78,5	61,7	86,5	62	52,5	74	71	64	78	77	58,5	86,5
Azurófilos (%)	16	6	21	19	8,2	28	7	3	12	16	9,7	29,5	18	9,5	20	15	10,5	26	14	7	25
Basófilos (%)	0	0	1	6	1,5	9	1	0	1	1	0	3	4	1	5,5	1	0	2	0	0	1
Heterófilos (%)	5	3	8	6	0	9	3	0	4	1	0	3	1	0	5,5	5	1,5	8	5	2	9
Heterófilos não corados (%)	2	0	2	3,5	1	7	4	0	10	1,5	0	4	3	0,5	18,5	0	0	3	1	0	2
CTT (10 ³ cels/mm ³)	5,5	4	7,5	8	4	10	5,1	2,5	7	4,7	2,5	7	5	2,7	9,7	5	3,1	7,2	5	3,5	7

M (Mediana), Q1 (1° quartil), Q3 (3° quartil), CTE (Contagem Total de Eritrócitos), CTL (Contagem Total de Leucócitos), HB (Hemoglobina), Ht (Hematócrito), VCM (Volume Corpuscular Médio), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média), CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média) e CTT (Contagem Total de Trombócitos)

Tabela 2 - Valores Bioquímicos para espécies selecionadas de *Bothrops* e *Crotalus* mantidas em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001 - São Paulo - SP

Parâmetros Bioquímicos	<i>B. alternatus</i>			<i>B. jararaca</i>			<i>B. jararacussu</i>			<i>B. moojeni</i>			<i>B. neuwiedi</i>			<i>C. d. collilineatus</i>			<i>C. d. terrificus</i>		
	M	Q1	Q3	M	Q1	Q3	M	Q1	Q3	M	Q1	Q3	M	Q1	Q3	M	Q1	Q3	M	Q1	Q3
	(n)			(n)			(n)			(n)			(n)			(n)			(n)		
ALT (U/L)	12,7	6,9	19,7	3,4	2,7	5,69	4,3	2,8	4,5	3,47	3,04	8,5	3,58	3,57	3,59	5,9	3,2	8,1	3,7	3,1	5,37
	(14)			(13)			(11)			(5)			(2)*			(11)			(32)		
AST (U/L)	6,55	4,74	9,7	6,63	4,91	9,12	5,49	4,64	8,64	7,01	4,45	10,5	4,64	3,63	5,83	7,23	3,79	10,1	5,83	4,04	7,72
	(15)			(25)			(15)			(9)			(9)			(17)			(49)		
CK (U/L)	242	136	476	221,5	99,9	324,8	107	89,6	133	132,5	74,7	225,3	114	40,8	236	86,7	46,6	182	79,9	42,3	139,5
	(15)			(24)			(15)			(10)			(8)			(19)			(49)		
FA (U/L)	17,5	9,78	24,7	51,2	29,3	376,8	10,3	9,17	12,5	23	19,2	38,3	30,9	5,62	56,3	31,9	29,5	45,8	34,9	26,1	57,1
	(14)			(21)			(14)			(8)			(2)*			(15)			(47)		
Albumina (g/dL)	1,41	1,32	1,57	1,5	1,08	1,83	1,54	1,24	2,33	1,13	0,98	1,59	1,41	1,13	1,69	1,01	0,9	1,17	1,1	0,85	1,36
	(14)			(21)			(14)			(8)			(7)			(16)			(49)		
PT (g/dL)	3,25	2,87	3,62	3	2,5	3,55	3,1	2,22	3,32	2,75	2,35	3,48	3,8	3,43	4,76	2,6	2,2	3	2,8	2,3	3,1
	(14)			(14)			(14)			(8)			(8)			(16)			(48)		
Glicose (mg/dL)	19,3	15,7	26,2	13,9	11,5	15,7	17	12,9	31	18,3	13,7	19,9	14,3	12,8	26,6	23,5	18,6	31,9	18,8	15,5	24,6
	(11)			(7)			(7)			(6)			(7)			(16)			(29)		
Cholesterol (mg/dL)	224	148,3	275	236	150	300	313	223,8	362,3	207	165,5	253,5	143,5	112,5	215	176,5	131,5	215,5	212	185	260,2
	(14)			(19)			(14)			(10)			(8)			(16)			(46)		
AU (mg/dL)	2,5	2,32	4,38	2,68	2,38	4,35	2,54	2,46	2,63	2,64	2,03	2,85	3,75	2,74	4,76	3,04	2,64	3,42	6,73	4,28	11,97
	(3)			(13)			(2)*			(3)			(2)*			(10)			(32)		
Uréia (mg/dL)	3	2,6	3,32	4,65	3,67	6,55	3,2	2,57	3,62	1,3	0,75	1,6	4,12	3,09	5,15	2	1,7	2,5	3	1,87	4,57
	(14)			(20)			(14)			(9)			(7)			(15)			(46)		
Creatinina (mg/dL)	0,71	0,63	0,74	0,64	0,52	1,2	0,67	0,6	0,84	0,66	0,59	0,77	0,59	0,53	0,66	0,89	0,7	0,94	0,94	0,73	1,6
	(8)			(7)			(12)			(8)			(6)			(16)			(44)		
Cálcio (mg/dL)	16,7	13,7	17,9	13,5	12,15	16,3	14,5	13	18	14,05	11,5	14,6	16,8	13,68	24,2	11,3	9,9	12,1	11,7	10,7	13,7
	(13)			(20)			(13)			(4)			(7)			(15)			(46)		
Fósforo (mg/dL)	2,6	2,15	3,3	1,8	1,5	2,4	3,7	2,37	6,5	2,8	2,4	3	2,92	2	7,39	2,2	2	3,4	3,9	2,85	4,6
	(13)			(15)			(14)			(7)			(5)			(11)			(33)		

M (Mediana), Q1 (1º quartil), Q3 (3º quartil), ALT (Alanina Amino Transferase), AST (Aspartato Amino Transferase), CK (Creatinoquinase), FA (Fosfatase Alcalina), PT (Proteínas Totais), AU (Ácido Úrico), * (Q1 e Q3 = Mínimo e Máximo, respectivamente)

Tabela 3 - Identificação dos confrontos estatísticos significantes, para valores hematológicos, distribuídos em função das espécies e parâmetros analisados - Março a Maio de 2001 - São Paulo - SP

Parâmetros Hematológicos	<i>B. alternatus</i> (Ba)	<i>B. jararaca</i> (Bj)	<i>B. jararacussu</i> (Bjs)	<i>B. moojeni</i> (Bm)	<i>B. neuwiedi</i> (Bn)	<i>C. d. collilineatus</i> (Cdc)	<i>C. d. terrificus</i> (Cdt)
CTE (10 ³ cels/mm ³)	Bm	ns	ns	Cdt, Cdc, Ba, Bn	Bm	Bm	Bm
CTL (10 ³ cels/mm ³)	ns	Cdt, Cdc	ns	ns	ns	Bj	Bj
HB (g/dL)	Bj, Bm	Cdt, Cdc, Ba, Bn	ns	Cdt, Ba, Bn	Bj, Bm	Bj	Bj, Bm
Ht (%)	Bj, Bm	Cdt, Cdc, Ba	Bm	Cdt, Cdc, Ba, Bjs	ns	Bj, Bm	Bj, Bm
VCM (fL)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
HCM (pg)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CHCM (%)	Bn	Bm, Bn	Bn	Cdc, Bj	Cdt, Cdc, Ba, Bj, Bjs	Bm, Bn	Bn
Linfócitos (%)	Bj	Cdt, Ba, Bjs	Bj	ns	ns	ns	Bj
Azurófilos (%)	ns	Bjs	Bj	ns	ns	ns	ns
Basófilos (%)	Bj, Bn	Cdt, Cdc, Ba, Bjs, Bm	Bj	Bj	Cdt, Ba	Bj	Bj, Bn
Heterófilos (%)	ns	Cdt	ns	ns	ns	ns	Bj
Heterófilos não corados (%)	ns	Cdt	ns	ns	ns	ns	Bj
CTT (10 ³ cels/mm ³)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

CTE (Contagem Total de Eritrócitos), CTL (Contagem Total de Leucócitos), HB (Hemoglobina), Ht (Hematócrito), VCM (Volume Corpuscular Médio), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média), CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média) e CTT (Contagem Total de Trombócitos), ns (não significante), azul (valores significativamente mais baixos), vermelho (valores significativamente mais altos)

Tabela 4 - Identificação dos confrontos estatísticos significantes, para valores bioquímicos, distribuídos em função das espécies e parâmetros analisados - Março a Maio de 2001 - São Paulo - SP

Parâmetros Bioquímicos	<i>B. alternatus</i> (Ba)	<i>B. jararaca</i> (Bj)	<i>B. jararacussu</i> (Bjs)	<i>B. moojeni</i> (Bm)	<i>B. neuwiedi</i> (Bn)	<i>C. d. collilineatus</i> (Cdc)	<i>C. d. terrificus</i> (Cdt)
ALT (U/L)	Cdt, Bj, Bjs	Ba	Ba	ns	ns	ns	Ba
AST (U/L)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CK (U/L)	Cdt, Cdc	Cdt	ns	ns	ns	Ba	Ba, Bj
FA (U/L)	Cdt, Cdc, Bj	Ba, Bjs	Cdt, Cdc, Bj	ns	ns	Ba, Bjs	Ba, Bjs
Albumina (g/dL)	ns	Cdt	Cdt, Cdc	ns	ns	Bjs	Bj, Bjs
PT (g/dL)	ns	ns	ns	ns	Cdt, Cdc	Bn	Bn
Glicose (mg/dL)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Colesterol (mg/dL)	ns	ns	Cdc, Bn	ns	Bjs	Bjs	ns
AU (mg/dL)	ns	Cdt	ns	ns	ns	Cdc	Cdc, Bj
Uréia (mg/dL)	Bm	Cdt, Cdc, Bm	Bm	Cdt, Ba, Bj, Bjs, Bn	Cdc, Bm	Cdc, Bj, Bn	Cdc, Bj, Bm
Creatinina (mg/dL)	ns	ns	Cdt	ns	Cdt	ns	Bjs, Bn
Cálcio (mg/dL)	Cdt, Cdc	Cdc	Cdt, Cdc	ns	Cdt, Cdc	Ba, Bj, Bjs, Bn	Ba, Bjs, Bn
Fósforo (mg/dL)	ns	Cdt, Bjs	Bj	ns	ns	ns	Bj

ALT (Alanina Amino Transferase), AST (Aspartato Amino Transferase), CK (Creatinoquinase), FA (Fosfatase Alcalina), PT (Proteínas Totais), AU (Ácido Úrico), ns (não significante), azul (valores significantemente mais baixos), vermelho (valores significantemente mais altos)

Tabela 5 - Valores hematológicos mínimos e máximos de machos e fêmeas para espécies selecionadas de *Bothrops* e *Crotalus* mantidas em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001 - São Paulo - SP

Parâmetros Hematológicos	<i>B. alternatus</i>			<i>B. jararaca</i>			<i>B. jararacussu</i>			<i>B. moojeni</i>			<i>B. neuwiedi</i>			<i>C. d. collilineatus</i>			<i>C. d. terrificus</i>		
	M	F	P	M	F	P	M	F	P	M	F	P	M	F	P	M	F	P	M	F	P
CTE (10 ³ cels/mm ³)	160-700	300-540	ns	130-450	230-640	ns	210-500	120-530	ns	160-210	160-380	ns	360-560	200-590	ns	310-590	110-530	ns	250-580	200-600	*
CTL (10 ³ cels/mm ³)	0,5-4,5	1-8	*	0,5-13	2-69	ns	1-8,5	1-4	ns	1,5-3,5	1-5,5	ns	0,5-4	1,5-12	ns	0,5-4	0,5-8	ns	0,5-9,5	0-6	ns
HB (g/dL)	4,4-8,7	5,2-11,1	ns	2,2-7,1	4,2-8,8	ns	2,7-8,1	1,9-8,9	ns	2,8-5,07	1,6-8,3	ns	7,1-8	2,2-8,9	ns	4,6-9,6	1,2-9,1	ns	5,5-9,3	5-8,9	ns
HT (%)	18-30	19-40	ns	8-26	17-37	ns	9-30	7-30	ns	9-21	5-20	ns	22-26	4-26	ns	16-36	7-33	ns	18-32	17-30	ns
VCM (fL)	429-119	434-816	ns	464-850	327-1029	ns	429-625	490-968	ns	500-1000	263-870	ns	464-667	200-800	ns	516-766	513-667	ns	368-769	417-1050	ns
HCM (pg)	101-346	105-237	ns	129-200	91-247	ns	129-167	137-278	ns	156-317	86-360	ns	143-210	111-296	ns	134-204	109-190	ns	105-224	114-295	ns
CHCM (%)	20-29,2	24-32,1	ns	21,2-33,1	14,3-41,9	ns	24,1-45,2	26,3-30,7	ns	22,57-39	24,45-44,9	ns	30,2-32,3	30,2-55,5	ns	23,5-32	17,4-31,4	ns	24,6-38,5	24,3-32	ns
Linfócitos (%)	54-81	63-94	*	44-85	40-76	**	58-94	57-96	ns	63-79	43-90	ns	51-88	54-75	ns	49-79	57-89	ns	25-92	22-96	ns
Azurófilos (%)	15-32	1-21	*	7-41	13-43	**	3-14	0-21	ns	16-28	7-38	ns	6-26	13-21	ns	0-39	2-26	ns	3-69	2-66	ns
Basófilos (%)	0-2	0-1	ns	3-21	0-21	ns	0-1	0-5	*	0-2	0-4	ns	3-6	0-12	ns	0-10	0-2	ns	0-5	0-5	ns
Heterófilos (%)	1-12	2-14	ns	0-14	0-14	ns	0-5	0-10	ns	3-4	0-17	ns	0-14	0-8	ns	3-16	0-16	ns	0-20	0-34	ns
Het. não corados (%)	0-9	0-4	ns	1-11	0-18	ns	0-27	0-16	ns	0-6	0-4	ns	0-17	1-22	ns	0-25	0-9	ns	0-8	0-10	ns
CTT (10 ³ cels/mm ³)	2,5-7,5	4,5-20	*	2,5-23,5	4-11	ns	1,5-5,5	2-9	ns	1-5,5	2,5-9	ns	2,5-5	2-17,5	ns	1-7,5	4-20	**	1,5-12	0,5-15	ns

CTE (Contagem Total de Eritrócitos), CTL (Contagem Total de Leucócitos), HB (Hemoglobina), Ht (Hematócrito), VCM (Volume Corpuscular Médio), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média), CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média) e CTT (Contagem Total de Trombócitos), M (Machos), F (Fêmeas), P (Valor de P), ns (não significante), * (P<0,05), ** (P<0,01), *** (P<0,001), vermelho (valores significantemente mais altos)

Tabela 6 - Valores bioquímicos de machos e fêmeas de espécies selecionadas de *Bothrops* e *Crotalus* mantidas em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001 - São Paulo - SP

Parâmetros Bioquímicos	<i>B. alternatus</i>			<i>B. jararaca</i>			<i>B. jararacussu</i>			<i>B. moojeni</i>			<i>B. neuwiedi</i>			<i>C. d. collilineatus</i>			<i>C. d. terrificus</i>		
	M	F	P	M	F	P	M	F	P	M	F	P	M	F	P	M	F	P	M	F	P
ALT (U/L)	6-14,1	2,8-35,7	ns	2,3-7,2	2,6-8,9	ns	0,2-17,7	2,7-4,4	ns	5,9	2,77-11,1	NR	3,57	3,59	NR	3,09-23	2,88-11,7	ns	3,19-5,7	2,7-15,7	ns
AST (U/L)	3,5-9,7	2,9-18,3	ns	4,1-11,4	3,7-40,1	ns	3,96-8,6	3,1-13,4	ns	3,4-7,9	3,3-76,9	ns	3,06-12	2,9-6,45	ns	2,74-12,5	2,88-11,8	ns	3,1-13,2	2,6-65,5	ns
CK (U/L)	134-1116	29,9-1016	ns	69,6-378	50,2-399	ns	100-156	43,3-176	ns	108-224	19,2-465	ns	105-275	13,2-158	ns	17,4-409	38,8-683	ns	24,2-425	18,3-892	**
FA (U/L)	21,7-35,1	7,4-23,7	**	25,8-653	15,6-910,5	ns	7,9-22,3	7,6-12,1	ns	41,2-49,9	18-29,5	ns	56,25	5,6	NR	31,5-99,1	14,5-36,1	**	26,2-452,5	18,6-353,2	***
Albumina (g/dL)	1,4-1,6	1,02-1,7	ns	0,99-1,9	1,05-2,09	ns	1,07-1,56	0,92-3,55	ns	1,091,11	0,8-1,77	ns	0,84-1,4	1,4-4,5	ns	0,6-1,16	0,88-2,9	ns	0,54-1,74	0,56-2,13	*
PT (g/dL)	3,2-3,9	2,3-3,7	ns	1,9-4,3	2,2-4,8	ns	1,7-3,2	1,7-4,2	ns	2,6-2,9	1,7-18,5	ns	3,4-4,9	3,8-5,7	ns	2,1-3,4	2-3,9	ns	1,2-3	1,9-4,5	***
Glicose (mg/dL)	19,3-29,4	12-37,8	ns	10,9-13,9	12,2-26,3	ns	-	11,8-31,1	NR	11,7-19,4	14,4-21,6	ns	10,8-26,6	13,6-54,7	ns	11,5-34	12-33	ns	13,7-35,7	12-59,4	*
Colesterol (mg/dL)	140-278	111-348	ns	197-335	112-310	*	170-481	158-464	ns	177-249	122-341	ns	111-203	133-256	ns	106-286	125-297	ns	157-324	117-458	**
AU (mg/dL)	2,32-4,38	-	NR	2,04-4,7	2,2-7,6	ns	2,46-2,6	-	NR	2,64-2,85	2,03	NR	-	2,74-4,76	NR	2,5-3,9	2,5-3,06	ns	2,04-13,5	2,52-19,1	ns
Uréia (mg/dL)	3,3-4,3	2,1-3,5	*	2,9-6,6	2,6-7,4	ns	2,2-3,9	2,2-6,1	ns	0,4-0,7	0,8-2,6	ns	4,1	3,09-7,2	NR	1,6-2,3	1,3-3,9	ns	1,5-6,8	0,6-14,5	ns
Creatinina (mg/dL)	0,59-0,7	0,62-1,2	ns	0,5	0,52-1,2	NR	0,6-0,69	0,55-0,89	ns	0,6-0,69	0,58-0,96	ns	0,57-0,6	0,52-0,76	ns	0,7-1,26	0,5-1,1	ns	0,6-5,48	0,5-4,1	ns
Cálcio (mg/dL)	11,8-14,4	14-19	**	10,9-13,9	12,3-22,3	**	10,5-18,3	11,1-48	ns	14,4	10,8-14,7	NR	12,6-14,7	16,8-27,4	ns	8,4-11,7	10,6-14,1	*	9,1-15,8	9,4-18,1	*
Fósforo (mg/dL)	1,7-2,6	1,8-5,6	ns	1-2,4	1,5-4,4	ns	2,2-3,4	2,2-7,9	*	2,9	2,1-4,8	NR	1,08	2,9-7,8	NR	1,2-3,4	2-5,3	ns	1,6-4,7	2,2-7,7	ns

ALT (Alanina Amino Transferase), AST (Aspartato Amino Transferase), CK (Creatinoquinase), FA (Fosfatase Alcalina), PT (Proteínas Totais), AU (Ácido Úrico), M (Machos), F (Fêmeas), P (Valor de P), ns (não significante), * (P<0,05), ** (P<0,01), *** (P<0,001), NR (Não Realizado), vermelho (valores significantemente mais altos)

5.1.1 Diferenças Estatísticas Significantes para Parâmetros Hematológicos

Os resultados obtidos para parâmetros hematológicos foram analisados para determinar diferenças estatísticas interespecíficas e sexuais.

5.1.1.1 Diferenças Interespecíficas

As diferenças estatísticas dos valores hematológicos ocorreram entre as espécies para contagem total de eritrócitos (CTE) e hemoglobina (Hb), onde *B. neuwiedi* apresentou valores de mediana mais altos e *B. moojeni* os mais baixos conforme gráficos 1 e 2 respectivamente. Para contagem total de leucócitos (CTL), *B. jararaca* apresentou mediana maior, quando comparada com as duas espécies de *Crotalus* (Gráfico 3). *B. alternatus* teve os valores de mediana para hematócrito mais altos (Ht) e *B. moojeni* os mais baixos (Gráfico 4). A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) apresentou diferenças significativas para *B. moojeni* e *B. neuwiedi*, mostrando valores de mediana maiores quando comparados com as demais espécies (Gráfico 5).

Gráfico 1 – Representação gráfica do número de eritrócitos distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 2 – Representação gráfica da concentração de hemoglobina distribuída em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 3 – Representação gráfica do número de leucócitos distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 4 – Representação gráfica do percentual de hematócrito distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 5 – Representação gráfica da concentração de hemoglobina corpuscular média distribuída em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

B. jararaca mostrou uma diminuição significativa na mediana de linfócitos quando comparada com as demais espécies (Gráfico 6). Os azurófilos apresentaram diferenças estatísticas entre *B. jararacussu* e *B. jararaca*, sendo que *B. jararacussu* apresentou mediana menor e *B. jararaca* maior (Gráfico 7). As espécies *B. jararaca* e *B. neuwiedi* tiveram os valores de mediana mais altos para basófilos (Gráfico 8). Os heterófilos e heterófilos não corados apresentaram diferenças significativas apenas entre *B. jararaca* e *C. d. terrificus*, onde *B. jararaca* obteve números mais baixos de mediana para heterófilos e mais altos para heterófilos não corados, gráficos 9 e 10 respectivamente.

Gráfico 6 – Representação gráfica do percentual de linfócitos distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 7 – Representação gráfica do percentual de azurófilos distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 8 – Representação gráfica do percentual de basófilos distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 9 – Representação gráfica do percentual de heterófilos distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 10 – Representação gráfica do percentual de heterófilos não corados distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

5.1.1.2 Diferenças Intersexuais

Foi detectada diferença significativa entre os sexos para *B. alternatus*, onde as fêmeas apresentaram valores de mediana mais altos que os machos para contagem total de leucócitos (CTL), contagem total de trombócitos (CTT) e linfócitos (Gráficos 11 a 13), enquanto que os machos tiveram níveis maiores de azurófilos (Gráfico 14).

Gráfico 11 – Representação gráfica do número de leucócitos distribuídos em função do sexo na espécie *B. alternatus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Gráfico 12 – Representação gráfica do número de trombócitos distribuídos em função do sexo na espécie *B. alternatus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Gráfico 13 – Representação gráfica do percentual de linfócitos distribuídos em função do sexo na espécie *B. alternatus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Gráfico 14 – Representação gráfica do percentual de azurófilos distribuídos em função do sexo na espécie *B. alternatus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

A espécie *B. jararacussu* mostrou diferença significativa entre os sexos apenas para basófilos, onde as fêmeas apresentaram valores de mediana mais altos (Gráfico 15).

Gráfico 15 – Representação gráfica do percentual de basófilos distribuídos em função do sexo na espécie *B. jararacussu*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Nós encontramos diferenças significativas entre machos e fêmeas de *B. jararaca* para linfócitos e azurófilos, sendo que as fêmeas tiveram valores de mediana menores de linfócitos e maiores de azurófilos (Gráficos 16 e 17).

Gráfico 16 – Representação gráfica do percentual de linfócitos distribuídos em função do sexo na espécie *B. jararaca*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Gráfico 17 – Representação gráfica do percentual de azurófilos distribuídos em função do sexo na espécie *B. jararaca*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Os machos de cascavéis (*C. d. terrificus*) apresentaram medianas maiores para eritrócitos (Gráfico 18), enquanto que as fêmeas de *C. d. collilineatus*, mostraram medianas maiores para trombócitos (Gráfico 19).

Gráfico 18 – Representação gráfica do número de eritrócitos distribuídos em função do sexo na espécie *C. d. terrificus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Gráfico 19 – Representação gráfica do número de trombócitos distribuídos em função do sexo na espécie *C. d. collilineatus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Não foi detectada, em nenhum dos parâmetros analisados, diferença estatística significativa entre machos e fêmeas para as espécies *B. moojeni* e *B. neuwiedi*.

5.1.2 Diferenças Estatísticas Significantes para Parâmetros Bioquímicos

Os resultados obtidos para parâmetros bioquímicos foram analisados para determinar diferenças estatísticas interespecíficas e sexuais.

5.1.2.1 Diferenças Interespecíficas

Nos parâmetros bioquímicos, nós encontramos diferenças significativas para ALT e CK, onde *B. alternatus* tiveram os maiores valores de mediana conforme gráficos 20 e 21. *B. jararaca* apresentou um aumento significativo nos níveis de fosfatase alcalina (FA) (Gráfico 22). As duas espécies de *Crotalus*, *B. jararaca* e *B. jararacussu* mostraram diferenças significativas para albumina quando comparadas entre si, sendo as medianas mais altas em *B. jararacussu* e as mais baixas em *C. d. terrificus* (Gráfico 23). Os níveis de

proteínas totais (PT) foram significativamente diferentes apenas entre *B. neuwiedi* e as duas espécies de *Crotalus*, onde *B. neuwiedi* apresentou valores de mediana maiores (Gráfico 24).

Gráfico 20 – Representação gráfica do nível de ALT distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 21 – Representação gráfica do nível de CK distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 22 – Representação gráfica do nível de fosfatase alcalina distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 23 – Representação gráfica do nível de albumina distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 24 – Representação gráfica do nível de proteínas totais distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Nós encontramos valores de mediana significativamente maiores de colesterol para *B. jararacussu* (Gráfico 25) e de ácido úrico (AU) para *C. d. terrificus* (Gráfico 26). *B. jararaca* apresentou os níveis mais altos de uréia e *B. moojeni* os mais baixos (Gráfico 27). A creatinina mostrou valores de mediana significantemente maiores para *C. d. terrificus* quando comparados com *B. jararacussu* e *B. neuwiedi* (Gráfico 28). Os valores de mediana mais altos de cálcio foram encontrados em *B. jararacussu* e *B. neuwiedi*, enquanto que as duas espécies de *Crotalus* tiveram os valores mais baixos (Gráfico 29). Níveis significantemente menores de fósforo ocorreram para *B. jararaca*, quando comparados com *B. jararacussu* e *C. d. terrificus* (Gráfico 30).

Gráfico 25 – Representação gráfica do nível de colesterol distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 26 – Representação gráfica do nível de ácido úrico distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 27 – Representação gráfica do nível de uréia distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 28 – Representação gráfica do nível de creatinina distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 29 – Representação gráfica do nível de cálcio distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras iguais significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

Gráfico 30 – Representação gráfica do nível de fósforo distribuídos em função de espécies de *Bothrops* e *Crotalus* selecionadas, Ba (*B. alternatus*), Bj (*B. jararaca*), Bjs (*B. jararacussu*), Bm (*B. moojeni*), Bn (*B. neuwiedi*), Cdc (*C. d. collilineatus*) e Cdt (*C. d. terrificus*). Letras diferentes significam diferenças estatísticas entre as espécies – São Paulo, 2001

5.1.2.2 Diferenças Intersexuais

Foi detectada diferença significativa entre os sexos para *B. alternatus*, onde as fêmeas apresentaram valores de mediana mais altos para cálcio (Gráfico 31) e os machos tiveram níveis maiores de fosfatase alcalina (FA) e uréia (Gráficos 32 e 33).

Gráfico 31 – Representação gráfica do nível de cálcio distribuídos em função do sexo na espécie *B. alternatus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Gráfico 32 – Representação gráfica do nível de fosfatase alcalina distribuídos em função do sexo na espécie *B. alternatus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Gráfico 33 – Representação gráfica do nível de uréia distribuídos em função do sexo na espécie *B. alternatus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

A espécie *B. jararacussu* mostrou diferença significativa entre os sexos apenas para níveis de fósforo, onde as fêmeas apresentaram valores de mediana mais altos (Gráfico 34).

Gráfico 34 – Representação gráfica do nível de fósforo distribuídos em função do sexo na espécie *B. jararacussu*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Nós encontramos diferenças significativas entre machos e fêmeas de *B. jararaca* para cálcio e colesterol, sendo que as fêmeas tiveram valores de mediana maiores de cálcio que os machos (Gráfico 35) e os machos apresentaram níveis mais altos de colesterol que as fêmeas (Gráfico 36).

Gráfico 35 – Representação gráfica do nível de cálcio distribuídos em função do sexo na espécie *B. jararaca*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Gráfico 36 – Representação gráfica do nível de colesterol distribuídos em função do sexo na espécie *B. jararaca*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Fêmeas de *C. d. terrificus* mostraram um aumento considerável no valor da mediana para albumina, proteínas totais (PT), colesterol e cálcio em relação aos machos (Gráficos 37 a 40).

Gráfico 37 – Representação gráfica do nível de albumina distribuídos em função do sexo na espécie *C. d. terrificus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Gráfico 38 – Representação gráfica do nível de proteínas totais distribuídos em função do sexo na espécie *C. d. terrificus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Gráfico 39 – Representação gráfica do nível de colesterol distribuídos em função do sexo na espécie *C. d. terrificus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Gráfico 40 – Representação gráfica do nível de cálcio distribuídos em função do sexo na espécie *C. d. terrificus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Os machos de *C. d. terrificus* apresentaram níveis maiores para CK, fosfatase alcalina (FA) e glicose (Gráficos 41 a 43).

Gráfico 41 – Representação gráfica do nível de CK distribuídos em função do sexo na espécie *C. d. terrificus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – Paulo, 2001

Gráfico 42 – Representação gráfica do nível de fosfatase alcalina distribuídos em função do sexo na espécie *C. d. terrificus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Gráfico 43 – Representação gráfica do nível de glicose distribuídos em função do sexo na espécie *C. d. terrificus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Porém, *C. d. collilineatus* mostraram diferenças significativas apenas para fosfatase alcalina (FA) e cálcio, onde os machos apresentaram valores de mediana mais altos para fosfatase alcalina (FA) (Gráfico 44) e níveis mais baixos de cálcio (Gráfico 45).

Gráfico 44 – Representação gráfica do nível de fosfatase alcalina distribuídos em função do sexo na espécie *C. d. collilineatus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Gráfico 45 – Representação gráfica do nível de cálcio distribuídos em função do sexo na espécie *C. d. collilineatus*. Fêmeas (vermelho), machos (azul) – São Paulo, 2001

Assim como nos parâmetros hematológicos, não foi detectada, em nenhum dos parâmetros bioquímicos analisados, diferença estatística significativa entre machos e fêmeas para as espécies *B. moojeni* e *B. neuwiedi*.

5.2 MORFOLOGIA CELULAR E CARACTERÍSTICAS CITOQUÍMICAS

A seguir serão apresentados os principais aspectos citológicos, citoquímicos e ultra-estruturais das células analisadas.

5.2.1 Aspectos Citológicos e Citoquímicos

Eritrócitos – Os eritrócitos foram as células mais abundantes nos esfregaços sangüíneos. Os eritrócitos maduros mostraram-se geralmente homogêneos no tamanho, forma e cor. Eram elípticos e possuíam um núcleo basofílico centralmente localizado (Figura 14a).

Ocasionalmente pequenos vacúolos podiam ser visualizados no citoplasma. O núcleo era oval a pleomórfico. Os eritrócitos apresentaram uma alta razão Núcleo:Citoplasma (N:C).

Eritrócitos imaturos foram ocasionalmente vistos no sangue circulante das espécies analisadas. As espécies *B. jararaca* e *C. d. collilineatus* apresentaram 14,3% dos animais estudados com eritrócitos imaturos (4/28) e (3/21), respectivamente. Já as espécies *B. jararacussu* e *C. d. terrificus* apresentaram 6,7% (1/15) e 4,1% (2/49), respectivamente. Não foram evidenciadas células jovens nas espécies *B. alternatus*, *B. moojeni* e *B. neuwiedi*.

Comparado com os eritrócitos maduros, os eritrócitos jovens eram células menores, arredondadas, com núcleo grande oval central e citoplasma mais basofílico (Figura 14a).

Hematozoários intraeritrocíticos (*Hepatozoon* sp) foram observados (Figura 14b). O percentual de animais parasitados foi de 3,6% (1/28) em *B. jararaca*; 6,7% (1/15) em *B. jararacussu*; 40% (4/10) em *B. moojeni* e 0,4% (1/49) em *C. d. terrificus*. Não foram evidenciados hemoparasitas nos eritrócitos das espécies *B. alternatus*, *B. neuwiedi* e *C. d. collilineatus*.

Trombócitos – Eram células nucleadas e podiam assumir duas formas, uma elíptica e a outra arredondada ou com margens irregulares (Figuras 14c-e). Nas duas formas o núcleo encontrava-se centralmente localizado. O citoplasma era pouco corado, tornando, algumas vezes, difícil a visualização da membrana celular, principalmente na forma irregular (Figura 14f). A proporção Núcleo:Citoplasma (N:C) era moderadamente alta. O núcleo era oval com cromatina densa. Os trombócitos foram frequentemente encontrados agregados (Figura 14f) e ocasionalmente com vacúolos. Diferenças sutis foram observadas entre trombócitos arredondados e linfócitos (Figura 14e), mas a distinção entre estes dois tipos celulares não foi difícil, uma vez que exibem forte marcação perinuclear pelo PAS (Figura 19a), enquanto os linfócitos da maioria das espécies estudadas foram negativos para esta coloração.

Linfócitos – Foram os leucócitos mais numerosos no sangue das espécies estudadas, sendo que os linfócitos pequenos foram mais comuns que os grandes. Eram redondos, mas frequentemente apresentavam margens irregulares, com o núcleo ocupando praticamente toda a célula e um citoplasma periférico, basófilo, em forma de meia lua (Figura 15a). Possuíam uma alta razão N:C. Além do tamanho, os linfócitos maiores diferiram dos pequenos por ter um núcleo mais pleomórfico, citoplasma mais basofílico e uma menor razão

N:C. Os linfócitos não coraram-se com nenhum dos marcadores citoquímicos utilizados, com exceção da espécie *B. alternatus*, onde alguns linfócitos apresentaram uma fraca positividade nas colorações com PAS (Figura 19b).

Azurófilos – Estas células foram o segundo tipo de leucócito mais observado. Eram redondas, o citoplasma continha numerosos grânulos azurofílicos e algumas vezes possuíam uma aparência monocitóide (Figura 15b). Tratou-se de uma linhagem leucocitária que apresentava muitas variações morfológicas. A proporção N:C era relativamente baixa. Frequentemente, os azurófilos apresentavam vacuolização do citoplasma (Figura 15c). O núcleo era centralizado ou levemente excêntrico (Figura 15d). Os grânulos azurofílicos coraram-se intensamente com benzidina peroxidase (Figura 20a-c) e SBB, embora algumas células apresentassem uma fraca positividade (Figuras 21a-d). Apenas poucas células marcaram fracamente com PAS (Figuras 19c-d).

Heterófilos – Eram células grandes, sendo predominantemente redondas com um núcleo excêntrico. Possuíam uma pequena razão N:C. Foram encontrados duas variações da mesma célula. Um tipo continha grânulos abundantes, pleomórficos, eosinofílicos, que lhes conferiam uma aparência homogênea (Figuras 16a-d, 17a-b). Alguns grânulos basofílicos pequenos, pontuais, também foram observados em algumas células. O segundo tipo apresentava a maioria dos aspectos semelhantes ao padrão anterior, porém com grânulos não corados; nestas células os núcleos coravam-se de forma mais intensa (Figuras 17c-d). Algumas células apresentaram grânulos perinucleares rosados a eosinofílicos, com uma acumulação focal de grânulos irregulares, intensamente eosinofílicos. A frequência destes tipos de heterófilos variou entre os indivíduos. Todos os heterófilos do primeiro tipo foram negativos para SBB e benzidina peroxidase, e positivos para PAS, com exceção de *B. moojeni*, que apresentou positividade em algumas células para SBB e foram negativos para PAS. O segundo tipo demonstrou resultados extremamente variáveis entre as espécies. Eles foram positivos para SBB em *B. alternatus* (Figura 21e) e algumas células foram fracamente positivas em *B. jararaca* (Figura 21f). Por outro lado, apresentaram-se positivos ou negativos para benzidina peroxidase (BP) em *B. jararacussu*, *B. moojeni* e *C. durissus* (Figura 20d), e apenas algumas células de *B. moojeni* apresentaram positividade para PAS (Figura 19e).

Basófilos – estas células foram pouco observadas, mas quando vistas mostraram-se redondas ou ovais e facilmente identificadas pelos numerosos grânulos redondos, intensamente basofílicos, que frequentemente ocultaram o núcleo (Figura 18a-d). A

freqüência desta célula foi consideravelmente maior em *B. jararaca*. Basófilos apresentaram positividade apenas em colorações com PAS em *B. alternatus* (Figura 19f).

Não foram evidenciadas células compatíveis com monócitos, seja na microscopia de luz ou ultra-estruturalmente.

A tabela 7 mostra as características citoquímicas de linfócitos, azurófilos, basófilos, heterófilos, heterófilos não corados e trombócitos, de seis espécies estudadas.

Tabela 7 - Características citoquímicas de células sangüíneas para espécies selecionadas de *Bothrops* e *Crotalus* mantidas em cativeiro no Instituto Butantan - São Paulo - SP

	<i>B. alternatus</i>			<i>B. jararaca</i>			<i>B. jararacussu</i>			<i>B. moojeni</i>			<i>B. neuwiedi</i>			<i>C.d. terrificus</i>		
	SBB	BP	PAS	SBB	BP	PAS	SBB	BP	PAS	SBB	BP	PAS	SBB	BP	PAS	SBB	BP	PAS
Linfócitos	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Azurófilos	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Basófilos	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Heterófilos	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+/-	-	-	-	-	+	-	-	+
Heterófilos Não corados	+	-	-	+/-	-	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	-	-	-	-	+/-	-
Trombócitos	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+

SBB (Sudan Black B), BP (Benzidina Peroxidase), PAS (Ácido Periódico de Schiff), - (negativo), + (positivo), ± (Variável)

5.2.2 Aspectos Ultra-Estruturais

Eritrócitos - o estudo das características ultra-estruturais dos eritrócitos não foi contemplado durante a microscopia eletrônica de transmissão.

Trombócitos - ultra-estruturalmente os trombócitos apresentaram-se como células de contorno regular com formatos variáveis, desde ovais ou arredondadas, até fusiformes, sem presença de projeções citoplasmáticas. Possuíam um núcleo grande lobulado ou chanfrado, com cromatina densa junto a carioteca. Foram visualizados canais elétronicamente luminescentes por todo o citoplasma que correspondem ao sistema de canais abertos conectados à superfície, que é caracterizado por vesículas ou vacúolos, de tamanho variável dispersos pelo citoplasma, sendo esta a principal característica ultra-estrutural dos trombócitos (Figura 22a, 23a-b).

Em maior aumento, um feixe de microtúbulos marginais foi visualizado nas pontas opostas de cada célula. Algumas mitocôndrias, retículo endoplasmático rugoso, complexo de Golgi e poucos grânulos também foram evidenciados.

Linfócitos – os linfócitos exibiram citoplasma escasso, homogêneo, pobre em organelas, destacando-se entre elas, mitocôndrias grandes, ribossomos livres e um discreto retículo endoplasmático rugoso. Ocasionalmente apresentavam um ou dois grânulos citoplasmáticos. O núcleo era redondo ocupando a maior parte da célula, com reentrâncias em sua membrana e exibindo pequenos agregados periféricos de heterocromatina. Algumas vezes apresentava projeções citoplasmáticas (Figura 22b e 23b).

Azurófilos – duas variações deste tipo celular foram visualizadas na microscopia eletrônica de transmissão. Um tipo apresentava numerosos e pequenos grânulos azurofílicos limitados por membrana, de forma e densidade variáveis, algumas mitocôndrias e retículo endoplasmático rugoso (Figura 24a e 25a). O outro tipo tinha muitos vacúolos citoplasmáticos, mitocôndrias, um retículo endoplasmático rugoso dilatado e muitos ribossomos (Figura 24b e 25b). O núcleo das duas variações apresentava uma pequena quantidade de heterocromatina perinuclear.

Heterófilos – os heterófilos apresentaram-se como células arredondadas ou ovais, com núcleo oval a irregular, freqüentemente chanfrado, podendo apresentar pequenas projeções citoplasmáticas (Figuras 26a-c e 27a-c). Os heterófilos mostraram ampla variedade em seus padrões granulares, sendo que neste trabalho foram identificados 3 tipos granulares. O primeiro tipo granular era de tamanho variável, geralmente redondo, elétron-denso e mostrando densidade homogênea (gr_1) (Figura 26b e 27c); o segundo tipo era maior e podia apresentar um conteúdo uniforme floculento ou um centro mais claro circundado por um córtex denso (gr_2) (Figura 26a e 27a). O terceiro tipo apresentava-se pleomórfico (redondos, ovais, alongados, quadrados), de tamanhos e densidades variáveis e, em algumas circunstâncias era composto por matriz que sugeria organização cristalóide (gr_3) (Figura 26c e 27b). Além dos grânulos, ocasionalmente eram evidenciadas mitocôndrias, retículo endoplasmático e complexo de Golgi.

Basófilos – eram células mais arredondadas, com núcleo irregular. Possuíam grânulos redondos discretamente menores e com uma aparência mais homogênea, sem a presença de inclusões cristalóides (Figura 28a-b). Ocasionalmente apresentou grânulos com formatos diferentes mais elétron-densos. Foram visualizados mitocôndrias, complexo de Golgi e retículo endoplasmático.

Ocasionalmente foram evidenciados no exame ultra-estrutural alguns plasmócitos no sangue de *B. jararaca*, caracterizados pelo retículo endoplasmático rugoso exuberante, mitocôndrias grandes e aparelho de Golgi evidente. (Figura 29). Os plasmócitos não foram visualizados ultra-estruturalmente no sangue de *C. d. terrificus* e não foram identificados no esfregaços sangüíneos a fresco de qualquer das espécies estudadas.

Figura 14 – Fotomicrografias de células sangüíneas coradas com May-Grunwald-Giemsa modificado (Rosenfeld, 1947) (aumento 1000x). (a) Eritrócitos maduros e eritrócito imaturo em *B. jararacussu* (seta); (b) Eritrócito parasitado por *Hepatozoon* sp em *B. moojeni* (seta); (c) Trombócito elíptico em *B. jararacussu* (seta); (d) Trombócito com margens irregulares em *B. jararaca* (seta); (e) Trombócito com margens irregulares (seta) e linfócito em *B. jararaca*; (f) Agregado de trombócitos em *B. neuwiedi*. Barra (10µm)

Figura 15 – Fotomicrografias de células sangüíneas coradas com May-Grunwald-Giemsa modificado (Rosenfeld, 1947) (aumento 1000x). (a) Linfócito em *B. jararacussu* (seta); (b) Azurófilo com aparência monocitóide em *B. jararacussu* (seta); (c) Azurófilo com muitos vacúolos no citoplasma (seta) em *B. jararaca*; (d) Azurófilo em *C. d. terrificus* (seta). Barra (10µm)

Figura 16 – Fotomicrografias de heterófilos corados com May-Grunwald-Giemsa modificado (Rosenfeld, 1947) (aumento 1000x), mostrando diferentes intensidades na coloração. (a) Heterófilo de *B. alternatus* (seta); (b) Heterófilo de *C. d. terrificus* (seta); (c) Heterófilo de *B. jararaca* (seta); (d) Heterófilo de *B. neuwiedi* (seta). Barra (10 μ m)

Figura 17 – Fotomicrografias de heterófilos corados com May-Grunwald-Giemsa modificado (Rosenfeld, 1947) (aumento 1000x), mostrando diferentes intensidades na coloração. (a) Heterófilo de *B. jararaca*; (b) Heterófilo de *B. neuwiedi*; (c) Heterófilo não corado de *C. d. terrificus*; (d) Heterófilo não corado de *B. jararacussu*. Barra (10 μ m)

Figura 18 – Fotomicrografias de basófilos corados com May-Grunwald-Giemsa modificado (Rosenfeld, 1947) (aumento 1000x). (a) Basófilo de *B. neuwiedi*; (b) Basófilo de *B. jararaca*; (c) Basófilo de *B. alternatus*. (d) Basófilo de *B. jararacussu*. Barra (10 μ m)

Figura 19 – Fotomicrografias de células sanguíneas positivas para PAS (aumento 1000x). (a) Trombócitos de *B. jararaca* (seta); (b) Linfócito de *B. alternatus* (seta); (c) Azurófilo de *B. moojeni* fraco positivo (seta). (d) Azurófilo de *B. alternatus* (seta); (e) Heterófilo não corado de *B. moojeni* (seta); (f) Basófilo de *B. alternatus* (seta). Barra (10 μ m)

Figura 20 – Fotomicrografias de células sangüíneas positivas para benzidina peroxidase (aumento 1000x) (a) Azurófilo de *B. alternatus* (seta); (b) Azurófilo de *C. d. terrificus* (seta) ; (c) Azurófilo de *B. newiedi* fraco positivo (seta). (d) Heterófilo não corado de *B. jararacussu* (seta). Barra (10 μ m)

Figura 21 – Fotomicrografias de células sangüíneas positivas para SBB (aumento 1000x). (a) Azurófilo de *B. alternatus* (seta); (b) Azurófilo de *B. moojeni* (seta); (c) Azurófilo de *B. jararaca* (seta); (d) Azurófilo de *C. d. terrificus* (seta); (e) Heterófilo não corado de *B. alternatus* (seta); (f) Heterófilo não corado de *B. jararaca* (seta). Barra (10 μ m)

Figura 22 – Eletronmicrografia de células sanguíneas de *B. jararaca*. (a) Trombócito mostrando núcleo chanfrado (n) e citoplasma com sistema de canais abertos (seta), alfa-grânulos (cabeça de seta) e inclusão citoplasmática (i) (aumento 6000x); (b) Linfócito apresentando núcleo grande irregular (n), citoplasma com algumas mitocôndrias (m) e retículo endoplasmático rugoso (seta) (aumento 10000x)

Figura 23 – Eletronmicrografia de células sangüíneas de *C. d. terrificus*. (a) Trombócito mostrando núcleo elíptico, sistema de canais abertos (seta), mitocôndrias (m) e banda marginal de microtúbulos (cabeça de seta) (aumento 7750x); (b) Detalhe do trombócito de *C. d. terrificus* mostrando a banda marginal de microtúbulos (cabeça de seta) e mitocôndrias (m); (c) Linfócito apresentando núcleo arredondado (n) e citoplasma escasso com algumas mitocôndrias (m) (aumento 10000x)

Figura 24 – Eletronmicrografias de azurófilos em *B. jararaca*. (a) Azurófilo mostrando núcleo grande irregular (n), muitos grânulos azurofílicos (seta), retículo endoplasmático rugoso (cabeça de seta) e algumas mitocôndrias (m) (aumento 7750x); (b) Azurófilo apresentando núcleo arredondado (n), retículo endoplasmático dilatado (re), grânulos azurofílicos (seta) e algumas mitocôndrias (m) (aumento 10000x)

Figura 25 – Eletronmicrografias de azurófilos em *C. d. terrificus*. (a) Azurófilo mostrando núcleo arredondado (n), muitos grânulos azurofilicos (seta) e algumas mitocôndrias (m) (aumento 7750x); (b) Azurófilo apresentando núcleo irregular (n), retículo endoplasmático dilatado (re), muitos grânulos azurofilicos (seta) e algumas mitocôndrias (m) (aumento 7750x)

Figura 26 – Eletromicrografia de Heterófilos em *B. jararaca*. (a) Heterófilo mostrando núcleo irregular, poucas mitocôndrias (m) e citoplasma com diferentes tipos de grânulos: grânulo redondo de densidade homogênea (gr₁), grânulo de conteúdo floculento (gr₂), grânulo com inclusão cristalóide (gr₃) (aumento 7750x); (b) Heterófilo apresentando núcleo chanfrado, grânulos redondos de densidade homogênea (gr₁), algumas mitocôndrias (m), complexo de Golgi (seta longa) e centríolos (seta curta) (aumento 10000x); (c) Detalhe de heterófilo apresentando grânulos de formas e densidades diferentes (gr₁) e inclusão cristalóide (gr₃) (aumento 35970x)

Figura 27 – Eletromicrografia de Heterófilo de *C. d. terrificus*. (a) Heterófilo arredondado apresentando núcleo excêntrico chanfrado (n), e citoplasma repleto de grânulos de tamanhos e densidades diferentes (gr₁ e gr₂); (b) Detalhe de heterófilo apresentando grânulos elétron-densos (gr₁) e com inclusão cristalóide em seu interior (gr₃); (c) Heterófilo apresentando núcleo irregular chanfrado (n), mitocôndrias (m) e grânulos heterogêneos (gr₁ e gr₃)

Figura 28 – Eletromicrografia de Basófilos. (a) Basófilo de *B. jararaca* apresentando núcleo arredondado (n), e citoplasma repleto de grânulos redondos em sua maioria, de densidade relativamente homogênea (gr) e algumas mitocôndrias (m) (aumento 7750x); (b) Basófilo de *C. d. terrificus* apresentando núcleo irregular (n), e citoplasma repleto de grânulos redondos (gr) em sua maioria, de densidade relativamente homogênea e algumas mitocôndrias (m) (aumento 10000x)

Figura 29 – Eletronmicrografia de Plasmócito em *B. jararaca*, mostrando núcleo grande arredondado, e citoplasma com retículo endoplasmático exuberante (aumento 7750x)

6 DISCUSSÃO

Bothrops neuwiedi

6 DISCUSSÃO

Neste estudo foram apresentados e comparados vários aspectos do sangue de sete espécies de serpentes brasileiras, todas da família Viperidae, sendo cinco do gênero *Bothrops* e duas do gênero *Crotalus*. O habitat natural destas espécies varia consideravelmente, porém todos os animais estavam em cativeiro por um período mínimo de 9 meses e eram mantidas sob as mesmas condições.

Há alguns anos atrás, a serpente *B. neuwiedi* era considerada como uma única espécie, com doze subespécies. Neste estudo, trabalhamos com duas subespécies diferentes, *B. neuwiedi urutu* e *B. neuwiedi neuwiedi*, que eram consideradas, na época do estudo, como pertencentes a mesma espécie, *B. neuwiedi* e *B. diporus*, respectivamente.

Muitos dos parâmetros sangüíneos analisados possuem valores mínimos e máximos muito amplos, mas em geral, os valores hematológicos e bioquímicos apresentados parecem estar de acordo com os reportados em pesquisas anteriores para outras espécies de Viperídeos; todavia algumas variações foram observadas. Estes valores podem estar maiores ou menores quando comparados com resultados obtidos na mesma família, mas podem estar dentro dos padrões para serpentes em geral. Esta situação pode representar uma variação da espécie, da técnica de colheita ou dos métodos de análise utilizados (JOHNSON; BENSON, 1996), ou da condição do animal (se de cativeiro ou de vida livre, “status” nutricional, idade e período de colheita diferentes) (DUGUY, 1970).

Por estas razões, a comparação entre os valores descritos em diferentes estudos precisa ser realizada com cuidado, haja vista que os procedimentos utilizados afetam significativamente os resultados obtidos. Adicionalmente, os valores hematológicos e bioquímicos dos répteis podem ser influenciados por sazonalidade, atividade motora, período reprodutivo, temperatura e fotoperiodismo, tornando a avaliação clínica destes animais difícil (DREW, 1994). Ainda, é importante mencionar que as diferenças, significativas ou não, encontradas neste estudo entre as espécies e sexos poderiam se modificar se aumentássemos a quantidade de animais para cada espécie avaliada.

6.1 ANÁLISE DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS

Sabe-se que o EDTA pode causar lise no sangue de algumas espécies de répteis, principalmente quelônios, tornando a heparina o anticoagulante de escolha. Em relação ao seu uso, em nosso trabalho não foram vistos os efeitos adversos descritos por Muro et al. (1998) e por Mader (2000), não havendo agregados leucocitários nem trombocitários que comprometessem a contagem destas células nestas espécies. Este fato sugere que a heparina seja uma ótima opção para o processamento do sangue de Viperídeos dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*.

Apesar de algumas serpentes das espécies *B. jararaca*, *B. jararacussu*, *B. moojeni* e *C. d. terrificus* possuírem *Hepatozoon* sp em suas hemácias, não haviam infecções altas que prejudicassem a saúde do animal, não havendo nenhuma manifestação clínica de doença.

A utilização da técnica da contagem simultânea de eritrócitos, leucócitos e trombócitos diluídos em solução de Natt e Herrick (1952) e lidos em câmara de Neubauer revelou-se adequada para estas espécies. Algumas vezes a diferenciação entre trombócitos e leucócitos foi difícil, mostrando a necessidade do acompanhamento por técnico experiente. A adoção da coloração de May-Grunwald-Giemsa modificado (ROSENFELD, 1947), mostrou-se satisfatória para a diferenciação dos diversos tipos celulares presentes nos esfregaços sangüíneos periféricos.

Troiano et al. (1997) utilizaram 180 espécimes de *C. d. terrificus*, de sexo e idades diferentes, capturadas da natureza e mantidas em cativeiro em condições semelhantes às utilizadas no presente estudo. A metodologia utilizada em seu estudo foi semelhante à adotada neste trabalho.

Os valores para CTT e número de azurófilos para *C. d. terrificus* descritos em nosso estudo foram semelhantes aos encontrados por Troiano et al. (1997) para a mesma espécie. Já os valores de CTE, VCM, HCM e número de linfócitos foram discretamente maiores, enquanto que os níveis de hemoglobina foram menores. Quando comparamos este mesmo estudo realizado por Troiano et al. (1997), com as outras espécies de *Bothrops* e

Crotalus contempladas no presente estudo, observamos que as mesmas semelhanças e diferenças ocorreram. Além disto, o valor do hematócrito na espécie *B. moojeni* foi consideravelmente menor.

Não foi possível identificar os motivos destas diferenças, visto que a metodologia, os animais e as condições de cativeiro dos dois estudos foram semelhantes. Desta forma, sugerimos que estas variações ocorram normalmente.

Os resultados hematológicos encontrados em nosso estudo para a espécie *B. jararaca* se mostraram semelhantes aos obtidos por Grego (2006) para a mesma espécie na mesma época do ano, e com animais mantidos na mesma instituição exatamente sob as mesmas condições, quais sejam, animais em cativeiro submetidos à extração de veneno utilizando CO₂; ainda, no trabalho de Grego (2006) foram empregados os mesmos procedimentos técnicos. A comparação entre estes resultados mostrou que houve variações no número de eritrócitos ($310/574 \times 10^3 \text{ céls/mm}^3$), leucócitos ($4/11 \times 10^3 \text{ céls/mm}^3$), hemoglobina (5,3/7g/dL) e CHCM (26,8/32%), onde os estudos de Grego apresentaram valores maiores. Porém estes valores encontram-se dentro das médias, quando confrontados com outros períodos de colheitas realizadas por Grego, em animais mantidos no mesmo laboratório sob condições semelhantes.

Os valores encontrados por Grego (2006) também revelam-se muito próximos aos encontrados neste estudo para outras espécies de *Bothrops*, assim como para espécies de *Crotalus* mantidos no mesmo laboratório sob as mesmas condições. Uma pequena diferença pode ser observada na contagem total de leucócitos, onde o estudo de Grego apresenta valores sempre um pouco mais elevados.

As variações encontradas entre o nosso estudo e o de Grego (2006) podem estar relacionadas a critérios pessoais na realização das contagens, visto que os estudos foram feitos em animais da mesma instituição, sob as mesmas condições de manutenção e procedimentos técnicos utilizados. Tal possibilidade ratifica a necessidade de analisar cuidadosamente as comparações entre resultados obtidos em trabalhos distintos.

Em nosso estudo, encontramos uma alta incidência de *Hepatozoon* sp na espécie *B. moojeni*, o que está de acordo com o relatado por Grego et al. (2000) na mesma espécie, em animais recém-chegados da natureza.

Quando comparados os valores hematológicos encontrados por Grego et al. (2000) em espécies de *B. moojeni* e *B. alternatus*, da região de Porto Primavera – SP, recém-chegadas da natureza, com as mesmas espécies descritas em nosso estudo, observamos valores inferiores de hematócrito em *B. moojeni* e mais altos de linfócitos. Também foi visto valores discretamente menores de leucócitos e trombócitos nas duas espécies neste estudo.

Observamos ainda que os valores relatados por Grego et al. (2000) para CTE e hemoglobina na espécie *B. moojeni* foram semelhantes, e quando comparados com outras espécies de *Bothrops* do presente estudo, apresentam-se mais baixos. Este fato pode indicar que esta espécie realmente possua menos eritrócitos circulantes.

Ainda, Freitas et al. (2003) em seu estudo com *C. d. terrificus* recém-chegadas da natureza, encontraram valores médios de leucócitos discretamente mais altos e de linfócitos mais baixos quando confrontados com os nossos dados para a mesma espécie mantida em cativeiro.

De acordo com Calle et al. (1994), os répteis machos teriam uma quantidade maior de eritrócitos do que as fêmeas, sendo o fator sexual importante na variação do número de eritrócitos e dos parâmetros hematimétricos. Em seu estudo com sursoris Calle et al. relatam valores de hematócrito mais altos nos machos do que nas fêmeas. No nosso estudo, apenas *C. d. terrificus* apresentaram diferenças significantes entre machos e fêmeas para contagem de eritrócitos.

Calle et al. (1994) relatam, ainda, números mais baixos de linfócitos em fêmeas, o que está de acordo com o que observamos em *B. jararaca*, porém *B. alternatus* apresentaram números de linfócitos significativamente maiores nas fêmeas.

Sob a microscopia de luz, os linfócitos são decididamente a célula mais numerosa dentre os leucócitos das espécies estudadas. Este achado está de acordo com o descrito amplamente por diversos autores (OTIS, 1973; MACMAHON; HAMER, 1975; WOJTASZEK, 1991; ALLEMAN; JACOBSON; RASKIN, 1999; SALAKIJ et al., 2002a; SALAKIJ et al., 2002b; SALAKIJ et al., 2002c. Embora Johnson e Benson tenham encontrado mais heterófilos em *Python regius* e Bounous et al. (1996), relatem mais azurófilos em *E. obsoleta quadrivittata*.

No presente trabalho, as espécies *B. jararaca* e *B. neuwiedi* tiveram os valores mais altos de basófilos, sendo maior do que os valores relatados em estudos anteriores por outros pesquisadores para outros viperídeos. Por outro lado, nossos resultados estão de acordo com estudos recentes realizados por Grego (2006) em *B. jararaca*. Segundo Almeida e Sano-Martins (2005) os filhotes de *B. jararaca* apresentam números bem elevados de basófilos, contudo pudemos observar que estes níveis elevados se mantêm nos adultos, levando a acreditar que valores altos de basófilos em *B. jararaca* pode ser uma característica desta espécie.

Os resultados encontrados por Hattingh e Willemse (1976) para *Bitis arietans*, um Viperídeo africano, para hematócrito ($X 24,8 \pm 4,83\%$) e hemoglobina ($X 8,12 \pm 1,68 \text{g/dL}$) encontram-se entre as medianas descritas no presente estudo, havendo uma pequena variação no valor do hematócrito quando comparado com *B. moojeni* (9,75-20%) e *B. jararaca* (16-22%).

Já Otis (1973) encontrou valores mais baixos em espécimes jovens de *B. arietans*, semelhante ao verificado em *B. jararaca* em nosso trabalho. Os valores para contagem total de leucócitos, hemoglobina, creatinina, colesterol e proteínas totais, estão dentro das medianas descritas neste estudo.

Apesar de serem serpentes de famílias diferentes, é interessante notar semelhança entre nossos resultados e os de Calle et al. (1994) para sucúris (*Eunectes murinus*) para hematócrito, creatinina, colesterol e cálcio, porém valores diferentes para contagem total e diferencial de leucócitos. Os valores de proteínas totais, albumina, fósforo, glicose, fosfatase alcalina, ALT e AST apresentaram valores relativamente mais altos em nosso estudo. Em relação às diferenças intersexuais, Calle et al. (1994) encontraram valores mais altos de fosfatase alcalina em machos de *E. murinus*, o que está de acordo com nossos achados para machos de *B. alternatus*, *C. d. terrificus* e *C. d. collilineatus*.

Semelhanças também são encontradas no estudo de Chiodini e Sundberg (1982) para a jibóia comum (*Boa constrictor constrictor*) em relação aos níveis de ALT, AST, uréia, creatinina, fósforo, cálcio e glicose, todavia encontramos valores mais altos de colesterol e de ácido úrico em cascavéis (*C. d. terrificus*), e valores mais baixos de fosfatase alcalina, albumina e proteínas totais.

Embora os nossos resultados bioquímicos sejam semelhantes aos obtidos para *P. regius* (JOHNSON; BENSON, 1996), eles são diferentes para os valores hematológicos no mesmo estudo. Nós encontramos resultados similares aos de Rosskopf, Woerpel e Yanoff (1982), em boas e pítons para a maioria dos parâmetros, porém observamos valores menores para proteínas totais e maiores para creatinina.

Já os resultados encontrados para proteínas totais, albumina, glicose, AST, cálcio e fósforo foram menores que os observados por Lamirande et al. (1999) em *Boiga irregularis*, um colubrídeo da região da Indonésia. De acordo com Campbell (1996), alguns répteis possuem níveis mais baixos de cálcio, o que pode refletir uma variação fisiológica normal.

Ainda, os dados alcançados corroboram os obtidos por Anderson, Wack e Hatcher (1997) e Lamirande et al. (1999) para níveis mais altos de cálcio e colesterol em fêmeas do que em machos. O aumento nos níveis de albumina, proteínas totais, cálcio e colesterol tem sido associado com a vitelogênese (CALLE et al., 1994; ANDERSON; WACK; HATCHER, 1997; LAMIRANDE et al., 1999). De acordo com Chiodini e Sundberg (1982), os níveis de cálcio e fósforo podem aumentar no período reprodutivo.

Já segundo Campbell (1996), os níveis de cálcio, proteínas totais e magnésio aumentam nas fêmeas de répteis antes da produção dos ovos, sendo o valor do cálcio 2 a 4 vezes mais alto nas fêmeas que exibem foliculogênese ativa, mobilizando cálcio dos ossos, devido ao aumento da atividade do estrógeno. De forma semelhante, a hiperproteinemia induzida por estrogênio está associada ao aumento das proteínas, primariamente globulinas (vitelogeninas), necessárias para a produção do óvulo, retornando a sua concentração normal, após a ovulação.

Drew (1994) sugere que elevados níveis de cálcio e fósforo podem ser um achado clínico normal em *Drymarchon corais* em cativeiro. Em seu estudo com esta espécie foram encontradas médias de 158,9 mg/dL de cálcio e 35,3 mg/dL de fósforo. Os níveis de cálcio e fósforo em nosso estudo ficaram em torno de 9,9 a 24 mg/dL e 1,5 a 7,4 mg/dL, respectivamente.

A grande variação no número de amostras para cada parâmetro, quando da utilização do aparelho Labtest, deveu-se ao fato de não haver soro suficiente para realizar todos os exames, pois em alguns animais a quantidade de sangue colhida foi insuficiente ou

este soro se solidificava. De acordo com Jacobson (1993), nas amostras sanguíneas de répteis, o soro removido após a centrifugação pode inesperadamente coagular e formar uma massa gelatinosa. Embora as causas deste fenômeno sejam desconhecidas, a coagulação é mais freqüente quando a colheita é realizada em tubos de vidro, sugerindo que as cargas elétricas do vidro sejam um fator predisponente.

Em relação à utilização do equipamento Reflotron (Roche®), este não se mostrou a melhor escolha para a realização dos exames bioquímicos de ALT, glicose, ácido úrico e creatinina, nas espécies estudadas. Apesar da vantagem de ser necessária apenas uma pequena amostra de sangue total para realização de cada parâmetro, muitas vezes o aparelho não realizava a leitura, pois os valores encontrados estariam acima ou abaixo de seu limiar de detecção; diminuindo consideravelmente o número de amostras para cada parâmetro analisado.

Embora haja uma grande variação na contagem diferencial de leucócitos em serpentes, sendo que alguns autores consideram cinco ou seis tipos diferentes de leucócitos circulantes (TROIANO et al., 1998; TROIANO et al., 2001a; SALAKIJ et al, 2002a; SALAKIJ et al, 2002c), em nossos estudos foram sempre encontrados os mesmos tipos celulares no sangue das espécies pesquisadas, apenas com variações na quantidade de cada tipo celular. Essas discrepâncias podem ocorrer devido a diversos fatores, como as condições ambientais, as condições de colheita e processamento do sangue, as condições do animal (se de vida livre ou de cativeiro) e principalmente devido à nomenclatura adotada pelo pesquisador. Nós adotamos a nomenclatura proposta por Alleman, Jacobson e Raskin (1999), classificando os leucócitos circulantes em linfócitos, azurófilos, heterófilos, heterófilos não corados e basófilos. Salakij et al. e Troiano et al., por exemplo, classificam os leucócitos circulantes em linfócitos, monócitos, azurófilos, heterófilos, eosinófilos e basófilos, o que torna a comparação entre os dados, mais difícil.

De acordo com Grego (2006), seus estudos corroboram as afirmações de vários autores segundo os quais os vertebrados ectotérmicos apresentam uma grande variação na composição sanguínea, mesmo sob condições aparentemente favoráveis; dessa forma desvios na composição média sanguínea não significariam, necessariamente, função fisiológica comprometida. Nosso estudo corrobora esta hipótese, visto que observamos uma imensa variação tanto nos parâmetros hematológicos quanto nos bioquímicos entre as diferentes

espécies de *Bothrops* e *Crotalus*, sem estar aparentemente relacionada a nenhum fator externo ou presença de enfermidades clinicamente identificáveis.

6.2 ANÁLISE DOS RESULTADOS MORFOLÓGICOS E CITOQUÍMICOS

Os eritrócitos de todas as espécies estudadas eram elípticos, nucleados e homogêneos em sua forma, coloração e tamanho, apresentando raramente vacúolos no citoplasma, o que está de acordo com o descrito amplamente na literatura (ALLEMAN; JACOBSON; RASKIN, 1999; SALAKIJ et al., 2002a; SALAKIJ et al., 2002b, SALAKIJ et al., 2002c).

Os linfócitos apresentaram-se arredondados, com núcleo grande ocupando quase toda a célula, enquanto os trombócitos eram elípticos com uma razão N:C menor, o que está de acordo com diversos trabalhos já publicados (CAMPBELL, 1991; CANNON, 1992; DOTSON; RAMSAY; BOUNOUS, 1995; CANFIELD, 1998).

Os pequenos linfócitos foram os mais comumente encontrados assim como em *E. o. quadrivitatta* (DOTSON; RAMSAY; BOUNOUS, 1995).

A diferenciação entre os linfócitos e os trombócitos não foi difícil nas espécies pesquisadas embora Bounnous et al. (1996) e Alleman, Jacobson e Raskin (1999) tenham relatado alguma dificuldade em distinguir estes dois tipos celulares em *Crotalus adamanteus* e *E. o. quadrivitatta* respectivamente. De acordo com Alleman, Jacobson e Raskin (1992) e Harr et al. (2001), estudando iguanas e jabutis do deserto, respectivamente, os trombócitos podem ser facilmente diferenciados dos linfócitos utilizando-se o PAS. Os trombócitos são PAS positivos enquanto os linfócitos são PAS negativos; todavia esta diferença pode não ser característica de todos os répteis, como foi o caso da *B. alternatus* que apresentou alguns linfócitos PAS positivos, semelhantemente ao observado por Salakij et al. (2002a) em *Ophiophagus hannah*. De forma semelhante, os trombócitos de *Gallotia simonyi*

(MARTINEZ-SILVESTRE et al., 2005) e de *Alligator mississippiensis* (MATEO; ROBERTS; ENRIGHT, 1984b) não foram positivos com PAS.

Segundo Daimon et al. (1987) os trombócitos foram positivos para peroxidase em tartarugas *Geoclemys reevesii* mas não em serpentes *Agkistrodon halys*, *Elaphe quadrivirgata* e *Trimeresurus flavoviridis*. Em nosso estudo os trombócitos foram positivos apenas para PAS.

Monócitos e azurófilos são considerados a mesma célula por alguns autores (BOUNOUS et al., 1996; ALLEMAN; JACOBSON; RASKIN, 1999), porém diferentes para outros (SALAKIJ et al., 2002c; MARTINEZ-SILVESTRE et al., 2005). Alguns pesquisadores caracterizam os azurófilos como monócitos com grânulos azurofílicos (CAMPBELL, 1996).

Os monócitos geralmente são mal caracterizados e confundidos com vários outros tipos celulares, resultando daí uma das causas de variação de percentuais registrados por vários autores (SANO-MARTINS, 1978). A presença de monócitos no sangue de serpentes é controversa, sendo que Troiano et al. (1997, 1999) identificaram-nas em sangue de *C. d. terrificus* e *Bothrops ammodytoides* da Argentina em uma porcentagem de 5,2 e 8,2%, respectivamente. Por outro lado, Bounous et al. (1996) e Alleman, Jacobson e Raskin (1999) não referem sua presença em sangue de *E. o. quadrivittata* e *C. adamanteus*, respectivamente.

Os monócitos são ainda identificados nos estudos feitos por Tucunduva, Borelli e Silva (2001), em *B. c. constrictor*; Harr et al. (2001), em *Iguana iguana*; Work et al. (1998), em *Chelonia mydas*; Alleman, Jacobson e Raskin (1992), em *Gopherus agassizii*; Mateo, Roberts e Enright (1984b), em *A. mississippiensis*.

Salakij et al. (2002a), em *O. hannah*; Salakij et al. (2002c), em *Homalopsis buccata*, e Salakij et al. (2002b), em três espécies diferentes de najas, sempre relatam a presença de monócitos em seus estudos de microscopia de luz, porém estas células não foram identificadas nos estudos ultra-estruturais.

Segundo Work et al. (1998), os monócitos de *C. mydas* são diferenciados, citoquimicamente, de outras células porque reagem positivamente para fosfatase ácida e PAS.

Apesar de vários pesquisadores relatarem a presença de monócitos no sangue circulante de serpentes, não foram visualizadas células em nossos estudos citológicos e citoquímicos que nos indicassem que monócitos e azurófilos sejam tipos celulares distintos.

Em nosso estudo os azurófilos foram o segundo tipo de leucócito mais encontrado, o que está de acordo com os estudos de Alleman, Jacobson e Raskin (1999) e Salakij et al. (2002a) em cascavéis e cobra rei, respectivamente. As características morfológicas dos azurófilos foram semelhantes ao encontrado por Salakij et al. (2002b) e Salakij et al. (2002a) em najas e em cobra rei, respectivamente, apresentando duas variações morfológicas, sendo uma com aparência monocitóide e outra com muitos vacúolos citoplasmáticos.

Os azurófilos foram identificados em *O. hannah*, *B. c. constrictor*, *G. agassizii* e *A. mississippiensis*, nos estudos feitos por Salakij et al. (2002a), Tucunduva, Borelli e Silva (2001), Alleman, Jacobson e Raskin (1992) e Mateo, Roberts e Enright (1984b), respectivamente.

Os grânulos dos azurófilos marcaram intensamente com SBB e peroxidase, havendo pequenas variações de intensidade entre as espécies, o que é semelhante ao encontrado por Salakij et al. (2002a) em cobra rei e Alleman, Jacobson e Raskin (1999) em cascavéis. Porém, apenas poucas células marcaram fracamente com PAS, diferentemente do observado por Tucunduva, Borelli e Silva (2001) em jibóias.

A presença de eosinófilos nos membros da família Squamata é controversa, sendo que alguns autores questionam sua existência nesta família. Os eosinófilos não foram observados em *E. o. quadrivittata* e *C. adamanteus* (BOUNOUS et al., 1996; ALLEMAN; JACOBSON; RASKIN, 1999), porém são descritos em *C. d. terrificus* da Argentina, *B. ammodytoides* e *D. corais* (TROIANO et al., 1997; CAMPBELL, 1996). Nos estudos desenvolvidos por Salakij et al. (2002a), com *O. hannah*; Harr et al. (2001), com *I. iguana*; Work et al. (1998), com *C. mydas*; Alleman, Jacobson e Raskin (1992), com *G. agassizii* e Mateo, Roberts e Enright (1984a), com *A. mississippiensis*, foram encontrados tanto heterófilos quanto eosinófilos.

De acordo com Alleman, Jacobson e Raskin (1992), em estudos com *G. agassizii*, os eosinófilos são facilmente distinguidos do heterófilos através de técnicas citoquímicas. Os grânulos dos eosinófilos são marcadamente positivamente com benzidina

peroxidase, enquanto que os grânulos dos heterófilos não se marcam desta forma. Porém, segundo Azevedo, Casaletti e Lunardi (2002) em tartarugas *C. dorbignii*, os eosinófilos foram negativos e os heterófilos foram positivos para peroxidase.

Cannon (1992), afirma a inexistência de heterófilos em *Lepidochelys kempi* (tartaruga marinha), denominando os granulócitos encontrados de pequenos e grandes eosinófilos. Cita também que os basófilos foram raramente encontrados. Já de acordo com Alleman, Jacobson e Raskin (1992) em tartarugas *G. agassizii*, a contagem de basófilos foi de 30% em relação ao número total de leucócitos, além de distinguir morfologicamente heterófilos e eosinófilos com base na forma de seus grânulos e marcações citoquímicas.

Os heterófilos e azurófilos dos Viperídeos analisados em nosso estudo demonstraram uma reação moderada para atividade de peroxidase, o que está de acordo com os estudos de Montali (1988).

No presente estudo, não ficou clara a evidência da presença ou não de eosinófilos no sangue das serpentes analisadas, devido a grande variação citoquímica encontrada entre as espécies em relação aos dois tipos de heterófilos descritos, isto é, heterófilos e heterófilos não corados.

Citoquimicamente nossos achados são semelhantes aos encontrados por Bounous et al. (1996) e Alleman, Jacobson e Raskin (1999); todavia, algumas variações entre as espécies foram detectadas. Ao contrário, nossos achados diferem dos resultados apresentados por Tucunduva, Borelli e Silva (2001) para *B. c. constrictor* e dos achados de Egami e Sasso (1988) para *B. jararaca*. De acordo com Egami e Sasso (1988), os linfócitos de *B. jararaca* foram tanto positivos como negativos para PAS; em contraste, nossos resultados apresentaram positividade apenas para *B. alternatus*. Tais discrepâncias corroboram a suposição de que os leucócitos de diferentes espécies sejam citoquimicamente distintos (BOUNOUS et al., 1996).

Em geral os basófilos são pouco observados, porém, são facilmente identificados por seus grânulos redondos intensamente basofílicos. Citoquimicamente marcaram apenas com PAS na espécie *B. alternatus*, semelhantemente ao encontrado em *C. adamanteus* por Alleman, Jacobson e Raskin (1999).

6.3 ANÁLISE DOS RESULTADOS ULTRA-ESTRUTURAIS

A morfologia dos linfócitos é bastante semelhante entre as espécies de répteis, como por exemplo, em *O. hannah* (SALAKIJ et al., 2002a), *C. adamanteus* (ALLEMAN; JACOBSON; RASKIN, 1999) e *Caiman crocodilus yacare* (MOURA et al., 1999), apresentando citoplasma escasso com poucas organelas e um núcleo grande, porém com um padrão menos denso de heterocromatina diferentemente do observado por Bounous et al. (1996) em *E. o. quadrivitatta*, Alleman, Jacobson e Raskin (1999) em *C. adamanteus*, Salakij et al. (2002a) em *O. hannah* e Martinez-Silvestre et al. (2005) em *G. simonyi*.

Os trombócitos foram tanto na microscopia de luz quanto ultra-estruturalmente, semelhantes aos descritos para outras espécies (RAMOS, 1992; DAIMON; GOTOH; UCHIDA, 1987; ALLEMAN; JACOBSON; RASKIN, 1999; SALAKIJ et al., 2002a; SALAKIJ et al., 2002c; MARTINEZ-SILVESTRE et al., 2005), demonstrando na microscopia eletrônica a presença de bandas marginais de microtúbulos, o sistema de canais abertos, alfa-grânulos e inclusões lisossomais. Destes achados, o sistema de canais abertos e a existência da banda marginal de microtúbulos, são os principais critérios para distinguir os trombócitos de outros tipos celulares presentes na circulação.

De acordo com Daimon, Gotoh e Uchida (1985), em observação ultra-estrutural, a existência de bandas de microtúbulos e sistema de canais conectados é o mais importante critério para distinguir os trombócitos de outras células do sangue periférico em jabutis. Nosso estudo vem corroborar esta afirmação.

Ultra-estruturalmente os azurófilos foram semelhantes aos encontrados por Ramos (1992) para *Trachemys dorbignii*, Alleman, Jacobson e Raskin (1999) para *C. adamanteus* e ao observado por Bounous et al. (1996) para *E. obsoleta*. Observamos a presença de duas variações morfológicas desta célula no exame ultra-estrutural, o que corresponde as duas variações descritas no estudo citológico. Uma das variações continha grande quantidade de grânulos azurofílicos, enquanto a outra apresentava retículo endoplasmático distendido e muitos vacúolos.

Em nosso estudo não foram evidenciadas células compatíveis com monócitos, sendo considerados apenas como azurófilos, diferentemente do descrito por Salakij et al. (2002c) em najas.

Ryerson (1943), encontrou dois tipos de granulócitos em duas espécies de tartarugas, que foram nomeados heterófilos (grânulos elípticos) e eosinófilos (grânulos redondos). Taylor, Kaplan e Hirano (1963) também encontraram eosinófilos (um tipo de grânulo) e heterófilos (três tipos de grânulos) em tartarugas (*Pseudemys scripta elegans*). Estudos recentes em *C. dorbignii* (AZEVEDO; CASALETI; LUNARDI, 2002; AZEVEDO; LUNARDI, 2003) sugerem que os dois tipos de granulócitos encontrados são células de linhagens diferentes.

Os estudos conduzidos por Moura, Oliveira e Egami (1997) e Oliveira et al. (1998a, 1998b) em jacarés (*C. c. yacare*) também demonstraram eosinófilos e heterófilos nesta espécie.

Kelényi e Németh (1969), sugerem que nos Squamata existam dois tipos de granulócitos que correspondem à mesma célula em diferentes estágios de maturação. Zapata, Leceta e Villena (1981) descreveram dois granulócitos, com diferentes tipos de grânulos, que foram classificados como heterófilos.

Ramos (1997), em seu estudo experimental com tracajás (*Podocnemis unifilis*), observou que ultra-estruturalmente os heterófilos foram caracterizados como células com núcleo deslocado periféricamente com cromatina relativamente elétron-densa. O citoplasma apresentou grânulos elétron-densos pleomórficos no tamanho e forma, desde arredondados a ovóides e em formas de fusos ou gotas.

Zapata, Leceta e Villena (1981), descrevem os heterófilos de *Lacerta hispânica* como células com dois tipos de granulações distintas, um tipo redondo a levemente alongado, pequeno, associado com a área do complexo de Golgi; outro redondo ou poligonal com centro elétron-denso. Ainda, referem que em alguns grânulos uma subestrutura não cristalóide pode ser observada, embora a maioria dos grânulos seja homogênea.

Em serpentes, Montali (1988) descreve um único tipo celular acidofílico, o heterófilo, com núcleo monomórfico e grânulos pobremente formados; o autor coloca que esta célula provavelmente combina os papéis do heterófilo e eosinófilo, sugerindo uma homologia

entre os heterófilos de répteis e os neutrófilos dos mamíferos. Isto está de acordo com o encontrado por Tucunduva, Borelli e Silva (2001) em seu estudo com *B. c. constrictor*. Alleman, Jacobson e Raskin (1999) também encontraram apenas heterófilos no sangue de *C. adamanteus*.

No nosso estudo os heterófilos apresentaram uma ampla variabilidade granular, sendo identificados 3 tipos granulares, pleomórficos e de densidade heterogênea, e em algumas circunstâncias apresentavam, no interior dos grânulos, uma matriz que sugeria organização cristalóide.

O presente estudo sugere que os grânulos dos heterófilos das duas espécies de Viperídeos analisados ultra-estruturalmente, possam desenvolver inclusões cristalóides de diferentes tamanhos, formas e densidade. Desta maneira, nossos achados citológicos, citoquímicos e ultra-estruturais nos levam a inferir que as espécies estudadas possuam apenas heterófilos no sangue circulante.

Os basófilos apresentaram-se como células arredondadas com grânulos redondos em sua maioria, com densidade relativamente homogênea e sem a presença de cristalóides, o que está de acordo com o descrito por Bounous et al. (1996) em *E. o. quadrivittata* e Alberio et al. (2005) em *Ameiva ameiva*.

Ocasionalmente, observamos ultra-estruturalmente um tipo celular diferente no sangue da espécie *B. jararaca*, que foi identificado como plasmócito. Os plasmócitos são células similares morfológicamente ao dos mamíferos, porém são raros no sangue periférico de serpentes.

Com base na grande variação morfológica e citoquímica dos leucócitos dos répteis, uma análise centrada apenas na morfologia é insuficiente para determinar os diferentes tipos celulares. Apesar das diversas publicações encontradas na área de hematologia, bioquímica, morfologia e citoquímica para répteis, é fato que ainda existem poucas pesquisas de base para fins conclusivos. Dessa maneira, percebe-se a necessidade de estudos complementares de imunoistoquímica, histoenzimologia, citometria de fluxo, entre outros, para a melhor compreensão da função e origem de cada tipo celular.

Embora o perfil hematológico seja freqüentemente utilizado para verificar o “status” fisiológico dos animais, existe uma falta generalizada de estudos que esclareçam o

significado das variações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos dos répteis, em especial quando comparados com outras Classes de vertebrados.

De maneira geral, interpretações da bioquímica sangüínea de répteis são consideradas as mesmas dos mamíferos domésticos, levando-se em conta que fatores externos, como condições ambientais, têm uma maior influência na fisiologia e condição de saúde dos vertebrados ectotérmicos. Conseqüentemente, a interpretação de resultados hematológicos e bioquímicos para répteis constitui um constante desafio.

Isto posto, recomendamos ao clínico ou pesquisador que manuseiem o presente trabalho, que utilizem as tabelas apresentadas com cautela e que sempre que possível realizem análises hematológicas periódicas em animais clinicamente sadios a fim de se elaborar o perfil hematológico para uma dada espécie em determinada região e situação específica.

7 CONCLUSÕES

Crotalus durissus terrificus

7 CONCLUSÕES

- De maneira geral, a metodologia utilizada foi satisfatória para a determinação do perfil hematológico proposto. Por outro lado, observamos que existe a necessidade de uma padronização da metodologia utilizada para otimizar o confronto dos dados previamente publicados e, conseqüentemente, auxiliar na compreensão dos motivos da existência de tamanha variação nos parâmetros hematológicos, bioquímicos e citoquímicos analisados.
- Os resultados hematológicos e bioquímicos deste estudo servem como base para valores normais para populações das espécies *Bothrops* e *Crotalus* mantidas em cativeiro sob condições semelhantes e com metodologias similares.
- O uso do aparelho Reflotron (Roche®) mostrou-se inadequado para a realização de exames bioquímicos de ALT, glicose, ácido úrico e creatinina, utilizando sangue total heparinizado, em espécies dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*. Muitas vezes o aparelho não realizava a leitura, pois os valores encontrados estariam acima ou abaixo de seu limiar de detecção.
- Através deste estudo, confirmamos a presença de níveis mais altos de cálcio e colesterol no sangue circulante de fêmeas.
- Este estudo sugere que a espécie *B. jararaca* possua números relativos mais altos de basófilos do que as outras espécies de *Bothrops* estudadas.
- Os resultados deste estudo fornecem informações morfológicas e citoquímicas valiosas para auxiliar na identificação das células sangüíneas em serpentes dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*.
- Por outro lado, o presente estudo confirma a necessidade de pesquisas complementares como, citometria de fluxo, imunoistoquímica, histoenzimologia, entre outros, para um melhor entendimento de todos os fatores implicados na caracterização de cada tipo celular.
- De acordo com os resultados citológicos, citoquímicos e ultra-estruturais apresentados, sugerimos a possibilidade da inexistência de eosinófilos e monócitos no sangue circulante das espécies *B. jararaca* e *C. d. terrificus*.

REFERÊNCIAS

- ALBERIO, S. O.; DINIZ, J. A.; SILVA, E. O.; SOUZA, W.; DAMATTA, R. A. Cytochemical and functional characterization of blood and inflammatory cells from the lizard *Ameiva ameiva*. **Tissue and Cell**, v. 37, n. 3, p. 193-202, 2005.
- ALLEMAN, A. R.; JACOBSON, E. R.; RASKIN, R. E. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from the desert tortoise (*Gopherus agassizii*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 9, p. 1645-1651, 1992.
- ALLEMAN, A. R.; JACOBSON, E. R.; RASKIN, R. E. Morphologic, cytochemical staining and ultrastructural characteristics of blood cells from eastern diamondback rattlesnakes (*Crotalus adamanteus*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 60, n. 4, p. 507-514, 1999.
- ALMEIDA, C. D.; SANO-MARTINS, I. S. Hematological studies of newborn *Bothrops jararaca* snakes (Viperidae, Crotalinae). **Memórias do Instituto Butantan**, v. 62, p. 99, 2005.
- ALMOSNY, N. R. P.; MONTEIRO, A. O. Patologia Clínica. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária**. São Paulo: Rocca, 2007. cap. 59, p. 939-966.
- ANDERSON, N. L.; WACK, M. S.; HATCHER, R. Hematology and Clinical Chemistry Reference Ranges for Clinically Normal, Captive New Guinea Snapping Turtle (*Elseya novaeguineae*) and the Effects of Temperature, Sex, and Sample Type. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 28, n. 4, p. 394-403, 1997.
- AZEVEDO, A.; CASALETTI, L.; LUNARDI, L. O. Morphology and histoenzymology of eosinophilic granulocytes in the circulating blood of the turtle (*Chrysemys dorsibignih*). **Journal of Submicroscopy Cytology and Pathology**, v. 34, n. 3, p. 265-269, 2002.
- AZEVEDO, A.; LUNARDI, L. O. Cytochemical characterization of eosinophilic leukocytes circulating in the blood of the turtle (*Chrysemys dorsibignih*). **Acta Histochemica**, v. 105, n. 1, p. 99-105, 2003.
- BOUNOUS, D. I.; DOTSON, T. K.; BROOKS JR., R. L.; RAMSAY, E. C. Cytochemical staining and ultrastructural characteristics of peripheral blood leucocytes from the yellow rat snake (*Elaphe obsoleta quadrivittata*). **Comparative Haematology International**, v. 6, n. 2, p. 86-91, 1996.
- CALLE, P. P.; RIVAS, J. R.; MUÑOZ, M.; THORBJARNARSON, J.; DIERENFELD, E. S.; HOLMSTROM, W.; BRASELTON, E.; KARESH, W. B. Health assessment of free-ranging anacondas (*Eunectes murinus*) in Venezuela. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 25, n. 1, p. 53-62, 1994.
- CAMPBELL, J. A.; LAMAR, W. W. **The venomous reptiles of Latin America**. New York: Cornell University, 1989. p. 180-226.

CAMPBELL, T. W. Clinical pathology. In: MADER, D. R. (Ed.). **Reptile medicine and surgery**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996. cap. 22, p. 248-257.

CAMPBELL, T. W. Clinical pathology of reptiles. In: MADER, D. R. (Ed.). **Reptile medicine and surgery**. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2006. cap. 28, p. 453-470.

CAMPBELL, T. W. Hematology of exotic animals. **The Compendium Continuing Education Practice Veterinary**, v. 13, n. 6, p. 950-957, 1991.

CANFIELD, P. J. Comparative cell morphology in the peripheral blood film from exotic and native animals. **Australian Veterinary Journal**, v. 76, n. 12, p. 793-800, 1998.

CANNON, M. S. The morphology and cytochemistry of the blood leukocytes of Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempi*). **Canadian journal of Zoology**, v. 70, n. 7, p. 1336-1340, 1992.

CANNON, M. S.; FREED, D. A.; FREED, P. S. The leukocytes of the rough-tail gecko *Cyrtopodion scabrum*: a bright-field and phase contrast study. **Anatomy Histology Embryology**, v. 25, n. 1, p. 11-14, 1996.

CARDOSO, J. L. C.; WEN, F. H. Introdução ao Ofidismo. In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD JR., V. **Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. cap. 1, p. 3-5.

CAXTON-MARTINS, A. E. Cytochemistry of blood in peripheral smears of some West African reptiles. **Journal of Anatomy**, v. 124, n. 2, p. 393-400, 1977.

CHIODINI, R. J.; SUNDBERG, J. P. Blood chemical values of the common boa constrictor (*Boa constrictor constrictor*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 43, n. 9, p. 1701-1702, 1982.

CHUDZINSKI, A. M.; SEELAENDER, M. C. L.; KELEN, E. M. A. Standardization of anesthesia with pentobarbital in the snake *Bothrops jararaca*. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 51, n. 4, p. 147-152, 1989.

COBORN, J. **The atlas of snakes of the world**. Neptune City: TFH Publications, 1991. 591 p.

COLES, E. H. **Veterinary clinical pathology**. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986. 486 p.

DAIMON, T.; GOTOH, Y.; KAWAI, K.; UCHIDA, K. Ultrastructural distribution of peroxidase in thrombocytes of mammals and submammals. **Histochemistry**, v. 82, n. 4, p. 345-350, 1985.

DAIMON, T.; GOTOH, Y.; UCHIDA, K. Electron microscopic and cytochemical studies of the thrombocytes of the tortoise (*Geoclemys reevesii*). **Journal of Anatomy**, v. 153, p. 185-190, Aug, 1987.

- DOTSON, T. K.; RAMSAY, E. C.; BOUNOUS, D. I. A color atlas of blood cells of the yellow rat snake. **The Compendium on Continuing Education Practice Veterinary**, v. 17, n. 8, p. 1013-1016, 1995.
- DREW, M. L. Hypercalcemia and hyperphosphatemia in indigo snakes (*Drymarchon corais*) and serum biochemical reference values. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 25, n. 1, p. 48-52, 1994.
- DUGUY, R. Number of blood cells and their variation. In: GANS, C.; PARSONS, T. S. **Biology of reptilia**. London: Academic Press, 1970. v. 3, p. 93-109.
- EGAMI, M. I.; SASSO, W. S. Cytochemical observations of blood cells of *Bothrops jararaca* (Reptilia, Squamata). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 48, n. 2, p. 155-159, 1988.
- FRANCO, F. L. Origem e Diversidade da Serpentes. In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD JR., V. **Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. cap. 3, p. 13-32.
- FREITAS, G.; GREGO, K. F.; RAMEH-DE-ALBUQUERQUE, L. C.; ZACARIOTTI, R. L. Hematological reference intervals of recently-caught free-ranging South American rattlesnakes (*Crotalus durissus terrificus*, Laurenti, 1768). **Memórias do Instituto Butantan**, v. 60, p. 138, 2003.
- FRYE, F.L. **Reptile care: an atlas of diseases and treatments**. Neptune City: T.F.H. Publications, 1991.
- GARCIA-NAVARRO, K. C. E.; PACHALY, J. R. **Manual de hematologia veterinária**. São Paulo: Varela, 1994.
- GREENE, H. W. **Snakes: the evolution of mystery in nature**. Califórnia: University of California Press, 1997. p. 16.
- GREGO, K. F. **Determinação dos níveis séricos de corticosterona e hormônios esteróides sexuais, induzidos pelo estresse da contenção física e da extração de veneno, em *Bothrops jararaca* (Ophidia: Viperidae)**. 2006. 130 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- HARR, K. E.; ALLEMAN, A. R.; DENNIS, P. M.; MAXWELL, L. K.; LOCK, B. A.; BENNETT, R. A.; JACOBSON, E. R. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells and hematologic and plasma biochemical reference ranges in green iguanas. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 218, n. 6, p. 915-921, 2001.
- HATTINGH, J.; WILLEMSE, G. T. Hematological observations on the puff adder, *Bitis arietans* (Ophidia: Viperidae). **Herpetologica**, v. 32, n. 3, p. 245-247, 1976.
- HAWKEY, C. M.; DENNET, T. B. **A colour atlas of veterinary comparative haematology**. Ipswich, UK: Wolfe Medical, 1989.
- HIGASHI, I. G. **100 anos de Butantan**. São Paulo: Instituto Butantan, 2001. 73 p.

JACOBSON, E. R. Biology and diseases of reptiles. In: FOX, J. G.; COHEN, B. J.; LOEW, F. M. **Laboratory animal medicine**. Orlando: Academic Press, 1984. cap. 15, p. 449-476.

JACOBSON, E. R. Blood collection techniques in reptiles: laboratory investigations. In: FOWLER, M. E. **Zoo & wild animal medicine: current therapy**. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1993. cap. 20, p. 144-152.

JAIN, N. C. Cytochemistry of normal and leuckemic leukocytes. In: JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 4th ed. Philadelphia: Lea e Febiger, 1986. cap. 33, p. 909-939.

JOHNSON, J. H.; BENSON, P. A. Laboratory reference values for a group of captive ball pythons (*Python regius*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 9, p. 1304-1307, 1996.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 12, p. 223-237.

KELÉNYI, G.; NÉMETH, Á. Comparative histochemistry and electron microscopy of the eosinophil leucocytes of vertebrates – A study of avian, reptile, amphibian and fish leucocytes. **Acta Biologica Academic Science Hungarian**, v. 20, n. 4, p. 405-422, 1969.

KOLESNIKOVAS, C. K. M. **Patologia comparada de cascavéis (*Crotalus durissus*, Laurenti, 1768) mantidas em cativeiro**. 1997. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

LAMIRANDE, E. W.; BRATTHAUER, A. D.; FISCHER, D. C.; NICHOLS, D. K. Reference hematologic and plasma chemistry values of brown tree snakes (*Boiga irregularis*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 30, n. 4, p. 516-520, 1999.

MACMAHON, J. A.; HAMER, A. H. Hematology of the Sidewinder (*Crotalus cerastes*). **Comparative biochemistry and Physiology**, v. 51A, n. 1, p. 53-58, 1975.

MADER, D. R. Normal Hematology of Reptiles. In: FELDMAN, B. V.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 2000. cap. 175, p. 1126-1132.

MARQUES, O. A. V.; SAZIMA, I. História Natural das Serpentes In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD JR., V. **Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. cap. 5, p. 62-71.

MARTINEZ-SILVESTRE, A.; MARCO, I.; RODRIGUES-DOMINGUES, M. A.; LAVÍN, S.; CUENCA, R. Morphology, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of the blood cells of the giant lizard of El Hierro (*Gallotia simonyi*). **Research in Veterinary Science**, v. 78, n. 2, p. 127-134, 2005.

MATEO, M. R.; ROBERTS, E. D.; ENRIGHT, F. M. Inflammation induced by subcutaneous turpentine inoculation of young American alligators (*Alligator mississippiensis*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, n. 9, p. 1870-1875, 1984a.

MATEO, M. R.; ROBERTS, E. D.; ENRIGHT, F. M. Morphologic, cytochemical and functional studies of peripheral blood cells of young american alligator (*Alligator mississippiensis*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, n. 5, p. 1046-1052, 1984b.

MELGAREJO, A. R. Serpentes Peçonhentas do Brasil In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD JR., V. **Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. cap. 4, p. 33-61.

MESSONIER, S. P. **Common reptile diseases and treatment**. Cambridge: Blackwell Science, 1996. 174 p.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Veterinary laboratory medicine interpretation and diagnosis**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1992.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Secretaria de vigilância em saúde**: Departamento de Vigilância e Epidemiologia. Disponível em <<http://www.portal.saude.gov.br>>. Acesso em: 28 dez. 2006.

MONTALI, R. J. Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (reptiles, birds and mammals). **Journal of Comparative Pathology**, v. 99, n. 1, p. 1-26, 1988.

MOURA, W. L.; MATUSHIMA, E. R.; OLIVEIRA, L. W.; EGAMI, M. I. Aspectos morfológicos e citoquímicos dos glóbulos sanguíneos de *Caiman crocodilus yacare* (Daudin, 1802) (Reptilia, Crocodilia). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 1, p. 45-50, 1999.

MOURA, W. L.; OLIVEIRA, L. W.; EGAMI, M. I. Ultrastructure observations of thrombocytes, heterophils and eosinophils in *Caiman crocodilus yacare* (Daudin, 1802) (Reptilia: Crocodilia). **Revista Chilena de Anatomia**, v. 15, n. 2, p. 201-208, 1997.

MURO, J.; CUENCA, R.; PASTOR, J.; VINAS, L.; LAVIN, S. Effects of lithium heparin and tripotassium EDTA on hematologic values of hermann's tortoise (*Testudo hermanni*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 29, n. 1, p. 40-44, 1998.

NATT, M. P.; HERRICK, C. A. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science**, v. 31, n. 4, p. 735-738, 1952.

OLIVEIRA, L. W.; MOURA, W. L.; MATUSHIMA, E. R.; EGAMI, M. I. Morphological and electronic cytochemistry in eosinophil in *Caiman crocodilus yacare* (Daudin, 1802) (Reptilia: Crocodilia). **Revista Chilena de Anatomia**, v. 16, n. 2, p. 245-254, 1998a.

OLIVEIRA, L. W.; MOURA, W. L.; MATUSHIMA, E. R.; EGAMI, M. I. Morphological and ultrastructural cytochemistry on heterophil of *Caiman crocodilus yacare* (Daudin, 1802) (Reptilia: Crocodilia). **Revista Chilena de Ciências Médicas y Biológicas**, v. 8, n. 2, p. 59-68, 1998b.

OTIS, V. S. Hematological and serum chemistry parameters of the African puff adder, *Bitis arietans*. **Herpetologica**, v. 29, n. 2, p. 110-116, 1973.

RAGE, J. C. Diversity of snakes. In: BAUCHOT, R. **Snakes a natural history**. New York: Sterling, 1994a. p. 34-47.

RAGE, J. C. Origin and evolution of snakes. In: BAUCHOT, R. **Snakes a natural history**. New York: Sterling, 1994b. p. 26-33.

RAMOS, M. C. C. **Avaliações qualitativas, quantitativas e ultra-estruturais da resposta inflamatória induzida experimentalmente por corpo estranho em tartarugas tigre d'água (*Trachemys dorbignyi*, Duméril e Bibron, 1835)**. 1992. 49 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.

RAMOS, M. C. C. **Avaliação de aspectos morfológicos, histoquímicos, imunohistoquímicos e ultra-estruturais do processo inflamatório crônico induzido experimentalmente pela inoculação de *Mycobacterium marinum* vivo e morto pelo calor, em tartarugas tracajá *Podocnemis unifilis*, Troschel, 1848**. 1997. 129 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

ROSENFELD, G. Método rápido de coloração de esfregaços de sangue. Noções práticas sobre corantes pancrômicos e estudo de diversos fatores. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 20, p. 315-328, 1947.

ROSSKOPF, W. J.; WOERPEL, R. W.; YANOFF, S. R. Normal hemogram and blood chemistry values for boa constrictors and pythons. **Veterinary Medicine – Small Animal Clinician**, v. 77, n. 5, p. 822-823, 1982.

RYERSON, D. L. Separation of the two acidophilic granulocytes of turtle blood, with suggested phylogenetic relationships. **Anatomical Record**, v. 85, n. 1, p. 25-48, 1943.

SALAKIJ, C.; SALAKIJ, J.; APIBAL, S.; NARKKONG, N.; CHANHOM, L.; ROCHANAPAT, N. Hematology, morphology, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of blood cells in king cobras (*Ophiophagus hannah*). **Veterinary Clinical Pathology**, v. 31, n. 3, p. 116-126, 2002a.

SALAKIJ, C.; SALAKIJ, J.; CHANHOM, L. Comparative hematology, morphology and ultrastructure of blood cells in monocellate cobra (*Naja kaouthia*), siamese spitting cobra (*Naja siamensis*) and golden spitting cobra (*Naja sumatrana*). **Kasetsart Journal of Natural Sciences**, v. 36, n. 3, p. 291-300, 2002b.

SALAKIJ, C.; SALAKIJ, J.; SUTHUNMAPINUNTA, P.; CHANHOM, L. Hematology, morphology and ultrastructure of blood cells and blood parasites from Puff-faced watersnakes (*Homalopsis buccata*). **Kasetsart Journal of Natural Sciences**, v. 36, n. 1, p. 35-43, 2002c.

SANO MARTINS, I. S. **Hematologia comparada de serpentes *Bothrops jararaca* e *Waglerophis merremii***. 1978. 131 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1978.

SILVESTRE, A. M. **Enfermedades de los reptiles**. Barcelona: Reptilia Ediciones, 2003. 207 p.

SPADACCI-MORENA, D. D. **Estudo do colágeno na decídua antimesometrial de camundongos submetidas à restrição alimentar**. 1993. Dissertação (Mestrado) - Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1993.

STEFFENS III, W. L. Ultrastructural Features of Leukocytes. In: FELDMAN, B. V.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2000. cap. 50, p. 326-336.

SYPEK, J.; BORYSENKO, M. Reptiles. In: ROWLEY, A. F.; RATCLIFFE, N. A. **Vertebrate blood cells**. Cambridge: University Press, 1988. p. 211-256.

TAYLOR, K. W.; KAPLAN, H. M.; HIRANO, T. Electron microscope study of turtle blood cells. **Cytologia**, v. 28, p. 248-256, 1963.

TROIANO, J. C.; GOULD, E.; MALINSKAS, G.; VIDAL, J. C.; SCAGLIONE, M. C.; GOULD, J.; DINÁPOLI, H.; SCAGLIONE, L. M.; DE ROODT, A. Valores de bioquímica sangüínea de *Bothrops alternatus* em cautividade. **Revista Espanhola de Herpetologia**, v. 12, p. 45-48, 1998.

TROIANO, J. C.; GOULD, E. G.; ALTHAUS, R.; MALINSKAS, G.; GOULD, J. A.; HEKER, J.; VIDAL, J. C.; AMANTINI, E.; SIMONCINI, C. Blood biochemical profile of the South American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) in captivity. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 7, n. 2, p. 183-189, 2001a.

TROIANO, J. C.; VIDAL, J. C.; GOULD, E. F.; MALINSKAS, G.; GOULD, J.; SCAGLIONE, M.; SACAGLIONE, L.; HEKER, J. J.; SIMONCINI, C.; DINÁPOLI, H. Haematological and blood chemical values from *Bothrops ammodytoides* (Ophidia-Crotalidae) in captivity. **Comparative Haematology International**, v. 9, n. 1, p. 31-35, 1999.

TROIANO, J. C.; VIDAL, J. C.; GOULD, E. G.; HEKER, J.; GOULD, J. A.; VOGT, A. U.; SIMONCINI, C.; AMANTINI, E.; DE ROODT, A. Hematological values of some *Bothrops* species (Ophidia-Crotalidae) in captivity. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 6, n. 2, p. 194-204, 2001b.

TROIANO, J. C.; VIDAL, J. C.; GOULD, J.; GOULD, E. Haematological reference intervals of the South American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*, Laurenti, 1768) in captivity. **Comparative Haematology International**, v. 1, p. 109-112, 1997.

TUCUNDUVA, M.; BORELLI, P.; SILVA, J. R. M. C. Experimental study of induced inflammation in the Brazilian Boa (*Boa constrictor constrictor*). **Journal of Comparative Pathology**, v. 125, n. 2-3, p. 174-181, 2001.

WALLACH, J. D.; BOEVER, W. J. **Diseases of exotic animals**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1983.

WOJTASZEK, J. S. Haematology of the Grass snake *Natrix natrix* L. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 100A, n. 4, p. 805-812, 1991.

WORK, T. M.; RASKIN, R. E.; BALAZS, G. H.; WHITTAKER, S. D. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from hawaiian green turtles. **American Journal of Veterinary Research**, v. 59, n. 10, p. 1252-1257, 1998.

ZAPATA, A.; LECETA, J.; VILLENA, A. Reptilian bone marrow. An ultrastructural study in the spanish lizard, *Lacerta hispanica*. **Journal of Morphology**, v. 168, p. 137-149, 1981.

ANEXOS

Anexo A - Valores hematológicos individuais para *B. alternatus* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	CTE	CTL	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	CTT
<i>B. alternatus</i>	Ba 9306	Fêmea	540000	8000	6,97	29	537	129	24,03	20000
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-05	Fêmea	510000	5500	8,42	30	588	165	28,07	8000
<i>B. alternatus</i>	Ba 9906	Fêmea	490000	7000	11,15	40	816	227	27,87	6500
<i>B. alternatus</i>	Ba 9901	Macho	590000	3000	5,99	30	508	101	19,97	7500
<i>B. alternatus</i>	Ba 9905	Macho	700000	4500	8,75	30	429	125	29,17	4000
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-04	Fêmea	380000	4500	8,99	31	816	237	29,00	7000
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-10	Fêmea	360000	6000	7,84	27	750	218	29,04	7500
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-13	Fêmea	530000	3500	5,57	23	434	105	24,22	5500
<i>B. alternatus</i>	Ba 9402-14	Fêmea	530000	1000	7,70	27	509	145	28,52	4500
<i>B. alternatus</i>	Ba 9402-22	Fêmea	430000	2500	8,02	25	581	186	32,08	5500
<i>B. alternatus</i>	Ba 9402-26	Fêmea	300000	6000	5,18	19	633	173	27,26	5500
<i>B. alternatus</i>	Ba 0008	Fêmea	350000	4000	5,54	22	629	158	25,18	4500
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-06	Macho	390000	1000	7,09	27	692	182	26,26	3000
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-09	Macho	160000	500	5,54	19	1187	346	29,16	3000
<i>B. alternatus</i>	Ba 9408	Macho	200000	1500	4,42	18	900	221	24,56	2500

CTE (Contagem Total de Eritrócitos x $10^3/\text{mm}^3$), CTL (Contagem Total de Leucócitos x $10^3/\text{mm}^3$), Hb (Hemoglobina g/dL), Ht (Hematócrito%),

VCM (Volume Corpuscular Médio fl), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média pg), CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média %), CTT (Contagem Total de Trombócitos x $10^3/\text{mm}^3$)

Anexo A - Valores individuais de contagem diferencial de leucócitos para *B. alternatus* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo -

SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	Linfócitos %	Azurófilos %	Basófilos %	Heterófilos %	Heterófilos não corados %
<i>B. alternatus</i>	Ba 9306	Fêmea	89	6	0	5	0
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-05	Fêmea	94	1	0	4	1
<i>B. alternatus</i>	Ba 9906	Fêmea	76	18	0	2	4
<i>B. alternatus</i>	Ba 9901	Macho	72	24	1	1	2
<i>B. alternatus</i>	Ba 9905	Macho	54	25	0	12	9
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-04	Fêmea	77	16	0	6	1
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-10	Fêmea	84	10	1	3	2
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-13	Fêmea	92	3	0	3	2
<i>B. alternatus</i>	Ba 9402-14	Fêmea	76	16	0	8	0
<i>B. alternatus</i>	Ba 9402-22	Fêmea	85	4	0	8	3
<i>B. alternatus</i>	Ba 9402-26	Fêmea	63	21	0	14	2
<i>B. alternatus</i>	Ba 0008	Fêmea	89	7	0	4	0
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-06	Macho	81	15	0	4	0
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-09	Macho	66	20	2	11	1
<i>B. alternatus</i>	Ba 9408	Macho	58	32	2	6	2

Anexo A - Valores bioquímicos individuais para *B. alternatus* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	ALT	AST	CK	FA	Alb	PT	Gli	Col	AU	Uréia	Crea	Cal	Fos
<i>B. alternatus</i>	Ba 9306	Fêmea	2,76	4,89	96,30	20,20	1,02	2,90	12,00	274,00		3,20	0,74		5,60
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-05	Fêmea	14,50	11,00	476,00	7,80	1,38	3,60	19,10	283,00		2,40		19,00	3,30
<i>B. alternatus</i>	Ba 9906	Fêmea		4,74	328,00	8,20	1,22	2,50		111,00		2,90		15,60	3,30
<i>B. alternatus</i>	Ba 9901	Macho	6,82	3,53	134,00				26,20	140,00			0,70		
<i>B. alternatus</i>	Ba 9905	Macho	14,10	7,84	223,00	27,80	1,64	3,20	19,30		2,50	4,30		13,10	2,60
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-04	Fêmea	25,90	7,25	242,00	16,00	1,68	3,50	21,20	348,00		2,80	0,74	18,70	2,80
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-10	Fêmea	14,90	17,90	1016,00	14,30	1,35	2,90	15,70	227,00		2,60	0,72	17,60	2,60
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-13	Fêmea	24,60	8,38	217,00	10,30	1,53	3,50	16,30	267,00		2,70	0,62	18,20	2,30
<i>B. alternatus</i>	Ba 9402-14	Fêmea	7,05	4,56	136,00	13,00	1,55	3,20	14,90	216,00		2,10		16,80	2,60
<i>B. alternatus</i>	Ba 9402-22	Fêmea	35,70	4,75	168,00	7,40	1,03	2,30		151,00		2,60	0,68	16,70	3,60
<i>B. alternatus</i>	Ba 9402-26	Fêmea	11,80	2,95	29,90	23,70	1,37	3,70		125,00		3,10		14,00	1,80
<i>B. alternatus</i>	Ba 0008	Fêmea	11,70	18,30	613,00	19,10	1,48	2,80	37,80	181,00		3,50	1,22	16,70	
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-06	Macho	6,00	6,55	340,00	21,70	1,62	3,70	29,40	255,00		3,30	0,59	14,40	2,00
<i>B. alternatus</i>	Ba 9401-09	Macho	13,60	5,47	243,00	29,90	1,37	3,30	23,60	278,00	2,32	3,30		13,40	1,70
<i>B. alternatus</i>	Ba 9408	Macho	9,10	9,70	1116,00	35,10	1,45	3,90		221,00	4,38	3,40		11,80	2,30

ALT (Alanina Amino Transferase U/L), AST (Aspartato Amino Transferase U/L), CK (Creatinoquinase U/L), FA (Fosfatase Alcalina U/L), Alb. (Albumina g/dL), PT (Proteínas Totais g/dL), Gli (Glicose mg/dL), Col (Colesterol mg/dL), AU (Ácido Úrico mg/dL), Uréia (mg/dL), Crea (Creatinina mg/dL), Cal (Cálcio mg/dL), Fos (Fósforo mg/dL)

Anexo B - Valores hematológicos individuais para *B. jararaca* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	CTE	CTL	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	CTT
<i>B. jararaca</i>	Bj 9374	Fêmea	250000	5500	5,28	17	680	211	31,06	7500
<i>B. jararaca</i>	Bj 9410-01	Fêmea	290000	25000	5,28	23	793	182	22,96	10000
<i>B. jararaca</i>	Bj 9410-03	Fêmea	260000	69000	6,42	17	654	247	37,76	8000
<i>B. jararaca</i>	Bj 9502-08	Fêmea	230000	2000	4,17	17	739	181	24,53	7500
<i>B. jararaca</i>	Bj 9696	Fêmea	310000	7500	5,28	19	613	170	27,79	5000
<i>B. jararaca</i>	Bj 96100	Fêmea								
<i>B. jararaca</i>	Bj 96103	Fêmea	420000	9000	5,28	19	452	126	27,79	10000
<i>B. jararaca</i>	Bj 9788	Fêmea	390000	2500	5,28	19	487	135	27,79	4000
<i>B. jararaca</i>	Bj 0001	Fêmea	550000	2500	7,55	18	327	137	41,94	9000
<i>B. jararaca</i>	Bj 0010	Fêmea								
<i>B. jararaca</i>	Bj 0011	Fêmea	550000	4000	5,00	22	400	91	22,72	10500
<i>B. jararaca</i>	Bj 0012	Fêmea	280000	2500	5,10	18	643	182	28,33	7000
<i>B. jararaca</i>	Bj 0015	Fêmea	340000	7500	5,00	35	1029	147	14,29	11000
<i>B. jararaca</i>	Bj 0017	Fêmea	640000	3500	7,40	29	453	116	25,52	8000
<i>B. jararaca</i>	Bj 9715	Macho	320000	4000	4,90	19	594	153	25,79	9500
<i>B. jararaca</i>	Bj 9313-08	Fêmea	580000	3000	8,80	37	638	152	23,78	4000
<i>B. jararaca</i>	Bj 9403-05	Fêmea	360000	7500	5,00	19	528	139	26,32	9500
<i>B. jararaca</i>	Bj 9404-03	Macho	200000	13000	3,60	17	850	180	21,18	10000
<i>B. jararaca</i>	Bj 9404-07	Macho	270000	4000	4,20	16	593	155	26,25	4500
<i>B. jararaca</i>	Bj 9502-16	Macho	240000	3500	3,20	13	542	133	24,61	2500
<i>B. jararaca</i>	Bj 9404-04	Macho								
<i>B. jararaca</i>	Bj 9502-18	Macho	280000	9500	4,30	13	464	154	33,08	23500
<i>B. jararaca</i>	Bj 9604-04	Macho	130000	6000	2,20	8	615	169	27,50	6500
<i>B. jararaca</i>	Bj 9685	Macho	410000	4000	5,90	22	537	144	26,82	18000
<i>B. jararaca</i>	Bj 9687	Macho	290000	6000	5,80	20	690	200	29,00	9000
<i>B. jararaca</i>	Bj 0013	Macho	240000	2000	3,10	12	500	129	25,83	4000
<i>B. jararaca</i>	Bj 0014	Macho	380000	500	6,00	21	553	158	28,57	3500
<i>B. jararaca</i>	Bj 0020	Macho	450000	4000	7,10	26	578	158	27,31	8000

CTE (Contagem Total de Eritrócitos x $10^3/\text{mm}^3$), CTL (Contagem Total de Leucócitos x $10^3/\text{mm}^3$), Hb (Hemoglobina g/dL), Ht (Hematócrito%), VCM (Volume Corpuscular Médio fl), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média pg), CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média %), CTT (Contagem Total de Trombócitos x $10^3/\text{mm}^3$)

Anexo B - Valores individuais de contagem diferencial de leucócitos para *B. jararaca* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan –
Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	Linfócitos %	Azurófilos %	Basófilos %	Heterófilos %	Heterófilos não corados %
<i>B. jararaca</i>	Bj 9374	Fêmea	53	25	3	14	5
<i>B. jararaca</i>	Bj 9410-01	Fêmea	0	0	0	0	0
<i>B. jararaca</i>	Bj 9410-03	Fêmea	0	0	0	0	0
<i>B. jararaca</i>	Bj 9502-08	Fêmea	49	28	5	2	15
<i>B. jararaca</i>	Bj 9696	Fêmea	49	36	7	1	7
<i>B. jararaca</i>	Bj 96100	Fêmea	57	23	1	6	13
<i>B. jararaca</i>	Bj 96103	Fêmea	58	18	6	0	18
<i>B. jararaca</i>	Bj 9788	Fêmea	61	33	0	4	2
<i>B. jararaca</i>	Bj 0001	Fêmea	53	35	7	4	1
<i>B. jararaca</i>	Bj 0010	Fêmea	61	13	21	0	5
<i>B. jararaca</i>	Bj 0011	Fêmea	51	43	0	2	4
<i>B. jararaca</i>	Bj 0012	Fêmea	55	27	4	4	10
<i>B. jararaca</i>	Bj 0015	Fêmea	60	26	6	10	0
<i>B. jararaca</i>	Bj 0017	Fêmea	76	20	1	0	1
<i>B. jararaca</i>	Bj 9715	Macho	73	16	6	2	3
<i>B. jararaca</i>	Bj 9313-08	Fêmea	0	0	0	0	0
<i>B. jararaca</i>	Bj 9403-05	Fêmea	40	39	14	0	7
<i>B. jararaca</i>	Bj 9404-03	Macho	65	9	21	0	5
<i>B. jararaca</i>	Bj 9404-07	Macho	48	28	9	6	11
<i>B. jararaca</i>	Bj 9502-16	Macho	68	8	12	2	9
<i>B. jararaca</i>	Bj 9404-04	Macho	44	41	9	0	6
<i>B. jararaca</i>	Bj 9502-18	Macho	73	8	4	14	1
<i>B. jararaca</i>	Bj 9604-04	Macho	66	17	9	3	1
<i>B. jararaca</i>	Bj 9685	Macho	81	13	5	0	1
<i>B. jararaca</i>	Bj 9687	Macho	82	7	10	0	1
<i>B. jararaca</i>	Bj 0013	Macho	85	7	3	0	5
<i>B. jararaca</i>	Bj 0014	Macho	69	24	6	0	1
<i>B. jararaca</i>	Bj 0020	Macho	78	17	6	0	1

Anexo B - Valores bioquímicos individuais para *B. jararaca* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	ALT	AST	CK	FA	Alb	PT	Gli	Col	AU	Uréia	Crea	Cal	Fos
<i>B. jararaca</i>	Bj 9374	Fêmea		7,18	103,00						7,58				
<i>B. jararaca</i>	Bj 9410-01	Fêmea		6,79	241,00	38,08	1,57					7,42	0,59	18,60	2,14
<i>B. jararaca</i>	Bj 9410-03	Fêmea	5,68	40,10	209,00	45,00	2,09			128,00	4,02	7,42		18,60	
<i>B. jararaca</i>	Bj 9502-08	Fêmea	8,93	19,20	214,00	19,04	1,83			310,00	4,02		1,24	19,53	
<i>B. jararaca</i>	Bj 9696	Fêmea	3,42	5,40	50,20	24,23	1,05			286,00	4,68	7,42		13,95	2,50
<i>B. jararaca</i>	Bj 96100	Fêmea													
<i>B. jararaca</i>	Bj 96103	Fêmea	2,65	8,17	56,30	25,96	1,57		14,00	214,00	3,80	7,42		15,81	1,55
<i>B. jararaca</i>	Bj 9788	Fêmea		6,63	221,00	15,58	1,83			212,00		5,30		22,33	4,40
<i>B. jararaca</i>	Bj 0001	Fêmea		3,70	352,00	43,27	1,05		12,20	115,00		5,30	0,73	15,81	
<i>B. jararaca</i>	Bj 0010	Fêmea													
<i>B. jararaca</i>	Bj 0011	Fêmea		3,88	93,50	347,30	1,11	2,20	15,70	150,00		2,60	1,20	16,50	2,40
<i>B. jararaca</i>	Bj 0012	Fêmea		9,15	271,00	155,70	1,21	2,90			2,34	3,00		12,30	
<i>B. jararaca</i>	Bj 0015	Fêmea	2,83	6,41	333,00	406,20	1,63	3,10	26,30	130,00		4,00	0,52		3,60
<i>B. jararaca</i>	Bj 0017	Fêmea	5,28	23,40	282,00	910,50	1,63	3,50		286,00	2,23	4,00	0,64	12,30	1,50
<i>B. jararaca</i>	Bj 9715	Macho	7,18	4,08	378,00	653,10	1,91	4,30	11,50	291,00	2,42	5,80		13,90	1,80
<i>B. jararaca</i>	Bj 9313-08	Fêmea	4,39	5,88	399,00					112,00	2,44				
<i>B. jararaca</i>	Bj 9403-05	Fêmea	3,24	8,83	51,10	205,40	1,99	4,80				4,30		13,90	
<i>B. jararaca</i>	Bj 9404-03	Macho	5,70	11,40	173,00	465,00	1,84	3,70	10,90	213,00	4,68	6,40		13,20	2,40
<i>B. jararaca</i>	Bj 9404-07	Macho		11,00	98,80										
<i>B. jararaca</i>	Bj 9502-16	Macho	3,35	8,65	198,00	482,30	1,50	3,50		335,00	2,66	4,30		12,70	1,00
<i>B. jararaca</i>	Bj 9404-04	Macho													
<i>B. jararaca</i>	Bj 9502-18	Macho		5,26	351,00					313,00	2,68				
<i>B. jararaca</i>	Bj 9604-04	Macho		4,56	300,00	32,60	1,05	2,10		324,00		6,60		12,70	1,20
<i>B. jararaca</i>	Bj 9685	Macho		4,40	344,00	55,40	1,42	2,90		236,00	2,04	5,00		10,90	1,80
<i>B. jararaca</i>	Bj 9687	Macho		4,40	139,00	51,20	1,37	2,80		300,00		2,90		12,10	1,60
<i>B. jararaca</i>	Bj 0013	Macho	2,3	9,08		25,80	0,99	1,90				3,60		10,90	1,10
<i>B. jararaca</i>	Bj 0014	Macho		5,76	139,00	45,60	1,01	2,60	13,90	197,00		3,90	0,51	10,90	
<i>B. jararaca</i>	Bj 0020	Macho	2,65	5,57	69,60	56,70	1,17	3,10		240,00		3,60		12,00	2,10

ALT (Alanina Amino Transferase U/L), AST (Aspartato Amino Transferase U/L), CK (Creatinoquinase U/L), FA (Fosfatase Alcalina U/L), Alb. (Albumina g/dL), PT (Proteínas Totais g/dL), Gli (Glicose mg/dL), Col (Colesterol mg/dL), AU (Ácido Úrico mg/dL), Uréia (mg/dL), Crea (Creatinina mg/dL), Cal (Cálcio mg/dL), Fósforo mg/dL

Anexo C - Valores hematológicos individuais para *B. jararacussu* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	CTE	CTL	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	CTT
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9104	Fêmea	420000	2000	6,68	24	571	159	27,83	4500
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9901	Fêmea	120000	1500	1,88	7	583	157	26,86	2000
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9903	Fêmea	240000	1000	4,31	16	667	180	26,94	4000
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9910	Fêmea	530000	2000	7,26	26	490	137	27,92	9000
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9902	Macho	460000	4500	6,75	28	609	147	24,11	4000
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-27	Macho	500000	1500	8,13	30	600	163	45,17	4500
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-34	Macho	320000	2000	5,36	20	625	167	26,80	1500
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-15	Macho	470000	8500	7,08	27	574	151	26,22	5500
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-07	Fêmea	430000	4000	6,70	23	535	156	29,13	8500
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-08	Fêmea	400000	2500	6,30	24	600	157	26,25	6000
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-12	Fêmea	340000	3000	7,80	27	794	229	28,89	7000
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-18	Fêmea	320000	3000	8,90	29	906	278	30,69	7000
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-25	Fêmea	310000	1000	8,30	30	968	268	27,67	3000
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9901-38	Fêmea	280000	2000	5,70	21	750	204	27,14	5000
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9901-33	Macho	210000	1000	2,70	9	429	129	30,00	5000

CTE (Contagem Total de Eritrócitos x $10^3/\text{mm}^3$), CTL (Contagem Total de Leucócitos x $10^3/\text{mm}^3$), Hb (Hemoglobina g/dL), Ht (Hematócrito%),

VCM (Volume Corpuscular Médio fl), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média pg), CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média %), CTT (Contagem Total de Trombócitos x $10^3/\text{mm}^3$)

Anexo C - Valores individuais de contagem diferencial de leucócitos para *B. jararacussu* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan –
Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	Linfócitos %	Azurófilos %	Basófilos %	Heterófilos %	Heterófilos não corados %
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9104	Fêmea	57	12	5	10	16
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9901	Fêmea	84	9	2	4	1
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9903	Fêmea	89	4	1	2	4
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9910	Fêmea	69	21	0	4	6
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9902	Macho	73	14	0	3	10
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-27	Macho	71	13	0	1	15
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-34	Macho	58	9	1	5	27
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-15	Macho	86	7	0	0	7
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-07	Fêmea	90	3	1	0	6
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-08	Fêmea	0	0	0	0	0
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-12	Fêmea	0	0	0	0	0
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-18	Fêmea	96	0	1	0	3
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-25	Fêmea	90	5	1	4	0
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9901-38	Fêmea	81	11	4	3	1
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9901-33	Macho	94	3	0	3	0

Anexo C - Valores bioquímicos individuais para *B. jararacussu* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	ALT	AST	CK	FA	Alb	PT	Gli	Col	AU	Uréia	Crea	Cal	Fos
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9104	Fêmea	3,45	4,64	43,30	10,10	3,55	4,20		301,00		2,20	0,74		7,80
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9901	Fêmea		5,25	110,00	11,40	0,92	2,00	31,10	231,00		3,50	0,68	12,90	2,20
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9903	Fêmea		11,70	176,00				11,80				0,55		
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9910	Fêmea		5,09	89,60	10,60	1,54	3,50	12,90	158,00		6,10	0,88	14,50	2,40
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9902	Macho	4,50	6,78	133,00	14,50	1,54	3,10		357,00		3,90	0,60	14,40	3,40
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-27	Macho	0,20	5,49	156,00	13,90	1,38	2,70		481,00	2,46	3,60		14,40	2,20
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-34	Macho	17,70	8,64	107,00	7,90	1,07	2,30		325,00	2,63	3,70	0,66	18,30	2,30
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-15	Macho	16,40	3,96	129,00	22,30	1,56	3,20		170,00		2,20	0,69	13,10	3,20
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-07	Fêmea	2,73	9,07	139,00	10,80	1,39	3,00	17,00	464,00		3,40	0,57	17,70	4,60
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-08	Fêmea	4,33	13,40	97,30	9,20	1,93	3,20		325,00		2,50	0,59	47,49	6,60
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-12	Fêmea	4,36	3,38	89,90	12,10	2,26	3,40	13,20	342,00		2,70	0,62	48,00	7,90
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-18	Fêmea	4,31	3,12	77,60	9,50	2,69	3,10	24,80	378,00		3,10	0,88	16,30	5,70
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9401-25	Fêmea	3,91	6,44	84,00	7,60	2,54	3,30	31,00	291,00		3,30	0,89	16,50	6,50
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9901-38	Fêmea	2,80	6,54	128,00	9,80	1,24	1,70		268,00		2,60		11,10	4,00
<i>B. jararacussu</i>	Bjs 9901-33	Macho		4,98	100,00	9,10	1,25	1,70		202,00		2,70		10,50	3,40

ALT (Alanina Amino Transferase U/L), AST (Aspartato Amino Transferase U/L), CK (Creatinoquinase U/L), FA (Fosfatase Alcalina U/L), Alb. (Albumina g/dL), PT (Proteínas Totais g/dL), Gli (Glicose mg/dL), Col (Colesterol mg/dL), AU (Ácido Úrico mg/dL), Uréia (mg/dL), Crea (Creatinina mg/dL), Cal (Cálcio mg/dL), Fos (Fósforo mg/dL)

Anexo D - Valores hematológicos individuais para *B. moojeni* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	CTE	CTL	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	CTT
<i>B. moojeni</i>	Bm 9704	Fêmea	230000	1000	6,73	15	652	293	44,87	7000
<i>B. moojeni</i>	Bm 9708	Fêmea	230000	4000	8,29	20	870	360	41,45	9000
<i>B. moojeni</i>	Bm 9922	Fêmea	230000	4500	5,37	13	565	233	41,31	7000
<i>B. moojeni</i>	Bm 0013	Fêmea	160000	5500	3,76	10	625	235	37,60	4500
<i>B. moojeni</i>	Bm 9703	Macho	160000	1500	5,07	13	812	317	39,00	1000
<i>B. moojeni</i>	Bm 9915	Fêmea	220000	1000	4,63	15	682	210	30,87	2500
<i>B. moojeni</i>	Bm 9923	Fêmea	190000	1500	1,64	5	263	86	32,80	2500
<i>B. moojeni</i>	Bm 0008	Fêmea	380000	3000	4,89	20	526	129	24,45	5000
<i>B. moojeni</i>	Bm 9401-01	Macho	210000	1500	4,74	21	1000	226	22,57	3500
<i>B. moojeni</i>	Bm 9401-02	Macho	180000	3500	2,81	9	500	156	31,22	5500

CTE (Contagem Total de Eritrócitos x $10^3/\text{mm}^3$), CTL (Contagem Total de Leucócitos x $10^3/\text{mm}^3$), Hb (Hemoglobina g/dL), Ht (Hematócrito%), VCM (Volume Corpuscular Médio fl), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média pg), CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média %), CTT (Contagem Total de Trombócitos x $10^3/\text{mm}^3$)

Anexo D - Valores individuais de contagem diferencial de leucócitos para *B. moojeni* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	Linfócitos %	Azurófilos %	Basófilos %	Heterófilos %	Heterófilos não corados %
<i>B. moojeni</i>	Bm 9704	Fêmea	76	18	3	2	1
<i>B. moojeni</i>	Bm 9708	Fêmea	86	9	4	0	1
<i>B. moojeni</i>	Bm 9922	Fêmea	58	38	0	0	4
<i>B. moojeni</i>	Bm 0013	Fêmea	88	7	0	1	4
<i>B. moojeni</i>	Bm 9703	Macho	78	16	0	4	2
<i>B. moojeni</i>	Bm 9915	Fêmea	82	15	3	0	0
<i>B. moojeni</i>	Bm 9923	Fêmea	90	10	0	0	0
<i>B. moojeni</i>	Bm 0008	Fêmea	43	34	2	17	4
<i>B. moojeni</i>	Bm 9401-01	Macho	63	28	0	3	6
<i>B. moojeni</i>	Bm 9401-02	Macho	79	16	2	3	0

Anexo D - Valores bioquímicos individuais para *B. moojeni* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	ALT	AST	CK	FA	Alb	PT	Gli	Col	AU	Uréia	Crea	Cal	Fos
<i>B. moojeni</i>	Bm 9704	Fêmea	3,31	7,77	73,30	18,00	1,58	18,50	14,40	341,00		1,60	0,69		2,80
<i>B. moojeni</i>	Bm 9708	Fêmea	3,47	13,10	229,00	19,70	1,60	3,60		168,00	2,03	2,60			4,80
<i>B. moojeni</i>	Bm 9922	Fêmea	11,10	76,90	465,00		0,95			158,00		0,80			
<i>B. moojeni</i>	Bm 0013	Fêmea		6,24	19,20	29,50	1,15	3,10	21,60	214,00		1,60	0,96		3,00
<i>B. moojeni</i>	Bm 9703	Macho	5,96	7,94	224,00	49,90	1,09	2,90	19,40	249,00	2,85	0,70	0,64		
<i>B. moojeni</i>	Bm 9915	Fêmea		3,26	144,00	23,70	1,77	2,30	17,70	267,00		0,80	0,80	13,70	2,10
<i>B. moojeni</i>	Bm 9923	Fêmea			75,20	19,10	0,80	1,70	19,00	122,00		1,30	0,58	10,80	2,40
<i>B. moojeni</i>	Bm 0008	Fêmea	2,77	7,01	133,00	22,30		2,50		201,00		1,30	0,59	14,70	2,40
<i>B. moojeni</i>	Bm 9401-01	Macho		3,41	108,00					213,00	2,64		0,60		
<i>B. moojeni</i>	Bm 9401-02	Macho		5,49	132,00	41,20	1,11	2,60	11,70	177,00		0,40	0,69	14,40	2,90

ALT (Alanina Amino Transferase U/L), AST (Aspartato Amino Transferase U/L), CK (Creatinoquinase U/L), FA (Fosfatase Alcalina U/L), Alb. (Albumina g/dL), PT (Proteínas Totais g/dL), Gli (Glicose mg/dL), Col (Colesterol mg/dL), AU (Ácido Úrico mg/dL), Uréia (mg/dL), Crea (Creatinina mg/dL), Cal (Cálcio mg/dL), Fos (Fósforo mg/dL)

Anexo E - Valores hematológicos individuais para *B. neuwiedi* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001.

São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	CTE	CTL	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	CTT
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9302-13	Fêmea	300000	12000	8,89	24	800	296	37,04	10000
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9401-01	Fêmea	200000	1500	2,22	4	200	111	55,50	2000
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9927	Fêmea	580000	3000	7,55	25	431	130	30,20	8500
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 0009	Fêmea	590000	4500	8,44	26	441	143	32,46	9500
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 0011	Fêmea	570000	7000	8,00	23	403	140	34,78	17500
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9302-04	Macho	560000	1000	8,00	26	464	143	30,77	3000
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9302-06	Macho	360000	500	7,55	24	667	210	31,46	4000
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9302-10	Macho	450000	4000	7,55	25	555	168	30,20	5000
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9401-05	Macho	440000	3000	7,11	22	500	161	32,32	2500

CTE (Contagem Total de Eritrócitos x $10^3/\text{mm}^3$), CTL (Contagem Total de Leucócitos x $10^3/\text{mm}^3$), Hb (Hemoglobina g/dL), Ht (Hematócrito%), VCM (Volume Corpuscular Médio fl), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média pg), CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média %), CTT (Contagem Total de Trombócitos x $10^3/\text{mm}^3$)

Anexo E - Valores individuais de contagem diferencial de leucócitos para *B. neuwiedi* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan – Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	Linfócitos %	Azurófilos %	Basófilos %	Heterófilos %	Heterófilos não corados %
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9302-13	Fêmea	57	13	0	8	22
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9401-01	Fêmea	54	21	5	0	20
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9927	Fêmea	73	13	12	1	1
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 0009	Fêmea	0	0	0	0	0
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 0011	Fêmea	75	19	2	1	3
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9302-04	Macho	67	18	4	0	11
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9302-06	Macho	62	18	6	14	0
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9302-10	Macho	88	6	4	0	2
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9401-05	Macho	51	26	3	3	17

Anexo E - Valores bioquímicos individuais para *B. neuwiedi* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	ALT	AST	CK	FA	Alb	PT	Gli	Col	AU	Uréia	Crea	Cal	Fos
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9302-13	Fêmea	3,59	5,14	27,80		1,41	5,71	54,70	256,00	4,76	7,21	0,64	20,00	2,92
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9401-01	Fêmea		2,91	13,20	5,62	1,69	4,19		219,00	2,74	5,15	0,54	24,21	6,92
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9927	Fêmea		4,56	158,00		1,41	3,81	13,60	133,00		3,09	0,76	16,84	2,92
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 0009	Fêmea		5,22											
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 0011	Fêmea		6,45	79,70		4,50	3,81	14,30	154,00		3,09	0,52	27,37	7,85
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9302-04	Macho	3,57	12,00	275,00			3,43	10,80	111,00		4,12		14,74	
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9302-06	Macho		4,21	262,00		0,84	3,43	21,30	112,00			0,57	13,68	
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9302-10	Macho		3,06	105,00	56,25	1,41	4,95	26,60	114,00		4,12	0,61	12,63	1,08
<i>B. neuwiedi</i>	Bn 9401-05	Macho		4,64	123,00		1,13	3,43	12,80	203,00		4,12			

ALT (Alanina Amino Transferase U/L), AST (Aspartato Amino Transferase U/L), CK (Creatinoquinase U/L), FA (Fosfatase Alcalina U/L), Alb. (Albumina g/dL), Fos (Fósforo mg/dL)

Anexo F - Valores hematológicos individuais para *C. d. collilineatus* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001.

São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	CTE	CTL	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	CTT
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-09	Fêmea	110000	8000	1,20	7	636	109	17,14	20000
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-17	Fêmea	530000	500	9,10	33	623	172	27,58	9000
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-01	Macho	490000	2500	8,60	32	653	175	26,87	2500
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-07	Macho	380000	500	6,90	22	579	182	31,36	7500
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-11	Macho	410000	1500	8,00	25	610	195	32,00	3000
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 89617	Fêmea	390000	1000	6,90	22	564	177	31,36	5500
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 90364	Fêmea	460000	2500	7,10	27	587	154	26,30	8500
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 90365	Fêmea	410000	2000	6,90	25	610	168	27,60	4000
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 92160	Macho	470000	3500	9,60	36	766	204	26,67	6500
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9606	Fêmea	420000	3000	8,00	28	667	190	28,57	8000
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9608	Fêmea	440000	4000	5,90	23	523	134	25,62	6500
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9722	Fêmea	430000	500	7,20	24	558	167	30,00	6500
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 0020	Fêmea	390000	3000	5,00	20	513	128	25,00	4000
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9180	Macho	310000	500	4,60	16	516	148	28,75	5000
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9227	Macho				0				
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9372	Macho	440000	1500	6,50	25	568	148	26,00	3500
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9622	Macho	440000	2000	8,60	32	727	195	26,87	1000
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9626	Macho	430000	500	6,60	27	628	153	24,44	2500
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9701	Macho	390000	4000	5,40	23	590	138	23,48	3500
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9720	Macho	590000	1500	7,90	32	542	134	24,69	2000
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9930	Fêmea	340000	1000	5,80	20	588	171	29,00	5000

CTE (Contagem Total de Eritrócitos x $10^3/\text{mm}^3$), CTL (Contagem Total de Leucócitos x $10^3/\text{mm}^3$), Hb (Hemoglobina g/dL), Ht (Hematócrito%), VCM (Volume Corpuscular Médio fl), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média pg), CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média %), CTT (Contagem Total de Trombócitos x $10^3/\text{mm}^3$)

Anexo F - Valores individuais de contagem diferencial de leucócitos para *C. d. collilineatus* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	Linfócitos %	Azurófilos %	Basófilos %	Heterófilos %	Heterófilos não corados %
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-09	Fêmea	0	0	0	0	0
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-17	Fêmea	75	15	1	0	9
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-01	Macho	71	18	4	5	2
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-07	Macho	79	15	1	5	0
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-11	Macho	78	11	1	7	3
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 89617	Fêmea	57	26	1	16	0
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 90364	Fêmea	89	6	0	9	0
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 90365	Fêmea	89	2	1	0	3
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 92160	Macho	62	28	0	9	3
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9606	Fêmea	77	20	0	0	3
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9608	Fêmea	82	10	2	0	6
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9722	Fêmea	78	15	1	5	1
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 0020	Fêmea	67	26	0	7	0
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9180	Macho	78	14	0	8	0
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9227	Macho	70	0	1	4	25
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9372	Macho	77	18	2	3	0
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9622	Macho	56	39	1	4	0
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9626	Macho	66	15	10	8	1
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9701	Macho	49	33	2	16	0
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9720	Macho	70	22	1	7	0
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9930	Fêmea	67	26	2	5	0

Anexo F - Valores bioquímicos individuais para *C. d. collilineatus* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP

Espécie	Nº Animal	Sexo	ALT	AST	CK	FA	Alb	PT	Gli.	Col	AU	Uréia	Crea	Cal	Fos
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-09	Fêmea	5,93	3,08	213,00	28,40	0,97	2,90		125,00	3,06	2,50		12,00	2,90
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-17	Fêmea	3,90	11,80	683,00		0,88	3,00	12,00	147,00			0,93		
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-01	Macho		2,74	308,00	45,60	0,60	2,10	28,40	115,00	2,54	2,00	0,71	8,40	2,20
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-07	Macho	23,00		31,50	99,10	0,60	2,70	11,50	106,00	3,19	1,80	0,86	9,90	
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9301-11	Macho	3,20	12,50	54,30	31,90	1,16	3,40		136,00		1,70	0,70	8,60	3,40
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 89617	Fêmea		5,01	51,60	31,00	1,42	3,90	32,60	297,00	2,76	2,50	0,55	13,10	5,30
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 90364	Fêmea	6,36	10,90	46,60	29,80	2,95	3,00	25,00			1,80	1,00	13,10	3,70
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 90365	Fêmea	11,70	3,75	38,80	20,50	2,26	3,00	18,80	197,00	2,51	3,90	0,93	14,10	2,90
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 92160	Macho	8,10	9,79	17,40	45,80	1,06	2,20	12,70		3,02	1,60	0,70	11,30	1,50
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9606	Fêmea	2,88	8,57	54,10	33,30	1,18	2,60	33,00	280,00	2,68	2,50	0,59	10,60	2,00
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9608	Fêmea	6,00	5,39	61,80	29,50	1,01	2,20	21,70	130,00		1,80	0,92	10,60	2,20
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9722	Fêmea		2,88	147,00	36,10	1,08	2,60	18,60	219,00		2,10		12,10	2,00
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 0020	Fêmea	5,01	7,45											
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9180	Macho			105,00	74,00	0,84	2,10	24,60	139,00		2,30		9,70	1,20
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9227	Macho													
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9372	Macho		3,84	34,20	31,50	1,01	2,30	22,40	167,00	3,90	1,60	0,92	11,10	
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9622	Macho		10,50	182,00						3,28		0,94		
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9626	Macho			86,70	52,80	0,97	2,50	34,00	192,00		2,00	1,26	11,70	
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9701	Macho		8,79	409,00				21,20	205,00			0,74		
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9720	Macho	3,09	7,23	163,00				31,00	286,00	3,83		0,78		
<i>C. d. collilineatus</i>	Cdc 9930	Fêmea		4,38	106,00	14,50	0,96	2,00	32,20	186,00		1,30	1,11	11,30	

ALT (Alanina Amino Transferase U/L), AST (Aspartato Amino Transferase U/L), CK (Creatinoquinase U/L), FA (Fosfatase Alcalina U/L), Alb. (Albumina g/dL), PT (Proteínas Totais g/dL), Gli (Glicose mg/dL), Col (Colesterol mg/dL), AU (Ácido Úrico mg/dL), Uréia (mg/dL), Crea (Creatinina mg/dL), Cal (Cálcio mg/dL), Fos (Fósforo mg/dL)

Anexo G - Valores hematológicos individuais para *C. d. terrificus* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001.

São Paulo - SP (continua...)

Espécie	Nº Animal	Sexo	CTE	CTL	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	CTT
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9303-03	Fêmea	420000	1500	7,00	27	643	167	25,93	10000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9303-12	Fêmea	500000	3000	7,00	26	520	140	26,92	12000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-13	Fêmea	370000	2000	5,30	18	486	143	29,44	2000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-14	Fêmea	370000	3500	7,90	27	730	213	29,26	15000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-15	Fêmea	200000	0	5,90	21	1050	295	28,09	500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-18	Fêmea	380000	4000	6,50	21	553	171	30,95	6500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9306-06	Fêmea	350000	1500	5,00	17	486	143	29,41	3500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-06	Macho	260000	1000	5,50	20	769	211	27,50	3500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-10	Macho	440000	500	6,90	24	545	157	28,75	5500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-17	Macho	250000	4500	5,60	18	720	224	31,11	1500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9405-07	Macho	470000	1500	7,50	27	574	160	27,78	2500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9903	Macho	580000	4500	7,40	28	483	128	26,43	4000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92183	Macho	560000	3500	7,40	29	518	132	25,52	7000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 91213	Macho	450000	4000	6,90	24	533	153	28,75	11000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9253	Fêmea	420000	1500	5,70	20	476	136	28,50	6000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9258	Fêmea	370000	3000	7,70	27	730	208	28,52	5500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92180	Fêmea	370000	4000	5,90	23	623	159	29,62	12500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92227	Fêmea	400000	500	7,10	24	600	177	29,58	3500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9403	Fêmea	600000	2500	7,80	25	417	130	31,20	5000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9546	Fêmea	470000	2500	6,40	24	511	136	26,67	5500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9642	Fêmea	490000	2500	8,90	30	612	182	29,67	3000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9164	Fêmea	300000	1000	6,50	22	733	217	29,54	3000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 0014	Fêmea	370000	1500	5,70	23	622	154	24,76	2500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 0016	Fêmea	460000	1500	5,60	23	500	122	24,35	4500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 0019	Fêmea	410000	4000	7,30	26	634	178	28,08	8000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-04	Macho	410000	500	5,80	21	512	141	27,62	2000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9303-05	Macho	550000	500	7,80	27	491	142	28,89	7000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9912	Fêmea	550000	5500	6,30	25	454	114	25,20	7500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9702-01	Fêmea	340000	6000	5,30	18	529	156	29,44	6000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9603-04	Fêmea	350000	1000	5,00	19	543	143	26,32	5000

CTE (Contagem Total de Eritrócitos x 10³/mm³), CTL (Contagem Total de Leucócitos x 10³/mm³), Hb (Hemoglobina g/dL), Ht (Hematócrito%), VCM (Volume Corpuscular Médio fl), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média pg), CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média %), CTT (Contagem Total de Trombócitos x 10³/mm³)

Anexo G - Valores hematológicos individuais para *C. d. terrificus* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001.

São Paulo - SP (conclusão)

Espécie	Nº Animal	Sexo	CTE	CTL	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	CTT
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9403-01	Macho	320000	1500	6,50	22	687	203	29,54	3000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9402-03	Fêmea	360000	2000	7,20	25	694	200	28,80	7000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9402-01	Fêmea	270000	1500	7,20	23	852	267	31,30	3500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9401-02	Fêmea	390000	1500	7,30	23	590	187	31,74	5000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9310-03	Fêmea	350000	1000	5,40	19	543	154	28,42	4000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9310-02	Fêmea	270000	3500	6,40	20	741	237	32,00	5000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9310-01	Fêmea	500000	4000	8,80	30	600	176	29,33	15000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9105-10	Fêmea	450000	4000	7,10	29	644	158	24,48	8000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92083	Macho	430000	1500	7,70	20	465	179	38,50	12000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92219	Macho	500000	9500	9,30	30	600	186	31,00	5000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9313-01	Macho	500000	2000	9,00	28	560	180	32,14	7000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9545	Macho	460000	1500	6,90	28	609	150	24,64	2500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9547	Macho	470000	2500	5,70	20	425	121	28,50	7500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9613	Fêmea	510000	1500	8,80	28	549	172	31,43	5500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9802	Macho	570000	2000	8,60	32	561	151	26,87	4500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9805	Macho	390000	3000	7,60	29	744	195	26,21	7000
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9837	Macho	570000	1500	6,00	21	368	105	28,57	4500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9937	Macho	460000	5000	6,70	23	500	146	29,13	3500
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9938	Macho	510000	2500	7,10	24	471	139	29,58	4500

CTE (Contagem Total de Eritrócitos x $10^3/\text{mm}^3$), CTL (Contagem Total de Leucócitos x $10^3/\text{mm}^3$), Hb (Hemoglobina g/dL), Ht (Hematócrito%), VCM (Volume Corpuscular Médio fl), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média pg), CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média %), CTT (Contagem Total de Trombócitos x $10^3/\text{mm}^3$)

Anexo G - Valores bioquímicos individuais para *C. d. terrificus* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP (continua...)

Espécie	Nº Animal	Sexo	ALT	AST	CK	FA	Alb	PT	Gli	Col	AU	Uréia	Crea	Cal	Fos
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9303-03	Fêmea	4,10	8,29	232,00	29,30	0,76	2,70	19,20	458,00		1,10	0,74	11,80	2,70
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9303-12	Fêmea	4,29	6,15	33,20	24,30	0,89	3,00	12,20	272,00		1,40		12,60	
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-13	Fêmea	3,08	7,05	143,00	38,30	1,00	3,10		256,00		1,70	0,52	11,90	2,90
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-14	Fêmea	3,51	4,61	111,00	32,80	1,03	3,10		189,00		12,40	0,68	11,20	
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-15	Fêmea	6,31	5,09	137,00		0,72	2,70		193,00	4,93	0,60		11,40	
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-18	Fêmea	3,60	3,89	96,00	27,20	0,56	2,80		312,00	3,24	0,70	0,50	10,70	2,20
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9306-06	Fêmea	15,70	6,55	66,50	353,20	0,67	3,10		185,00		1,80	0,63	11,10	3,50
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-06	Macho	3,47	6,52	79,70	57,10	0,74	2,10	30,50	223,00	4,18	3,00	1,61	9,10	
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-10	Macho	5,20	13,20	157,00	83,50	0,74	2,70		188,00	2,96	1,70	0,92	10,80	3,00
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-17	Macho	4,62	11,50	141,00	45,20	0,76	2,30	17,90	199,00	5,35	2,60	2,10	9,30	
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9405-07	Macho		6,26	257,00		1,02		29,60	162,00			0,72		
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9903	Macho	5,74	8,36	145,00	74,50	1,04	2,80	22,20	324,00	4,26	2,60	1,66		
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92183	Macho		4,09	84,00	61,50	1,25	3,00	35,20	208,00			0,92		
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 91213	Macho	3,19	3,52	117,00	47,00	1,02	2,40	13,70	179,00	8,77	5,90	1,67	11,70	4,40
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9253	Fêmea	10,50	10,50	34,90	26,10	1,60	2,90		308,00	8,19	4,40	2,89	15,70	5,20
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9258	Fêmea	3,09	3,53	43,90	33,80	1,48	3,10	18,80	216,00	5,34	3,20	0,91	11,60	4,00
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92180	Fêmea	3,12	2,66	31,40	61,30	1,52	3,00		260,00	6,48	3,60	1,17	11,70	3,90
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92227	Fêmea	10,70	5,62	40,70	20,00	1,61	2,90	17,00	222,00	10,20	3,40	2,11	11,50	4,70
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9403	Fêmea	5,03	6,81	55,80	68,00	1,42	2,70	16,10	192,00	9,81	4,50	0,95	10,50	4,20
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9546	Fêmea		4,57	18,30	25,30	1,69	3,10	23,40	260,00	2,52	3,10	0,54	14,80	4,30
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9642	Fêmea	2,91	7,53	54,10	28,60	1,70	2,90	25,90	233,00	4,33	3,20	1,13	11,40	4,00
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9164	Fêmea	8,34	9,93	127,00	35,00	1,39	3,00	18,70	205,00	10,90	4,50	1,02	14,40	6,40
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 0014	Fêmea	5,55	13,20	84,50	19,00	1,26	2,60		185,00	6,65	2,90	0,89	10,30	4,10
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 0016	Fêmea			66,00	25,60	1,08	1,90		117,00	5,71	2,80	0,84	9,40	3,00
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 0019	Fêmea		8,36	36,80	27,20	1,33	2,80	12,20	211,00	6,82	2,80	0,97	10,70	3,80
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-04	Macho	3,68	5,56	24,20	452,50	0,87	2,70		176,00	12,10	6,80	5,48	10,70	
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9303-05	Macho		6,20	60,40	36,60	1,03	3,00	13,70	196,00	13,50	6,60	1,74	13,90	4,70
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9912	Fêmea	2,74	4,16	79,90	79,80	0,84	4,00			6,03	6,40		12,40	
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9702-01	Fêmea	5,61	5,32	25,10	29,80	1,22	3,10		230,00	15,94	14,50	4,10	10,80	
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9603-04	Fêmea	2,98	2,61	37,70	23,80	0,69	2,80	15,70	287,00	13,50	4,90	1,13	12,00	
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9403-01	Macho		8,65	39,40	26,20	0,54	2,00		159,00	11,60	4,80	1,57	9,70	2,90

ALT (Alanina Amino Transferase U/L), AST (Aspartato Amino Transferase U/L), CK (Creatinoquinase U/L), FA (Fosfatase Alcalina U/L), Alb. (Albumina g/dL), PT (Proteínas Totais g/dL), Gli (Glicose mg/dL), Col (Colesterol mg/dL), AU (Ácido Úrico mg/dL), Uréia (mg/dL), Crea (Creatinina mg/dL), Cal (Cálcio mg/dL), Fos (Fósforo mg/dL)

Anexo G - Valores bioquímicos individuais para *C. d. terrificus* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan - Março a Maio de 2001. São Paulo - SP (conclusão)

Espécie	Nº Animal	Sexo	ALT	AST	CK	FA	Alb	PT	Gli	Col	AU	Uréia	Crea	Cal	Fos
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9402-03	Fêmea	2,89	7,42	57,60	24,50	1,10	3,10		274,00	11,50	3,40	1,11	12,90	4,50
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9402-01	Fêmea	3,14	3,88	40,00	18,60	1,23	2,90	12,00	220,00	15,60	7,00	2,30	14,00	6,00
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9401-02	Fêmea	3,35	3,40	61,90	25,80	1,32	3,50		331,00	16,40	5,80	1,67	17,00	7,70
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9310-03	Fêmea	2,98	65,50	892,00	34,90	1,11	3,10	59,40	213,00		2,60	0,63	14,30	2,40
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9310-02	Fêmea	3,72		46,70	37,40	1,69	4,40		415,00	19,10	3,30	0,60	13,90	2,50
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9310-01	Fêmea	3,01	2,96	34,10	30,20	1,44	4,50	16,20		13,50	6,00	1,21	13,70	5,30
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9105-10	Fêmea		7,04	56,80	22,00	2,13	3,20	15,30	305,00		2,30	1,26	18,10	6,00
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92083	Macho			105,00	52,40	0,86	2,20	35,70	169,00		2,50	1,05	10,70	1,80
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92219	Macho		6,03	95,10	41,60	1,21	2,80	19,00	261,00	2,04	2,30	0,89	12,60	2,80
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9313-01	Macho		4,97	148,00	41,50	1,15	2,60		235,00	3,73	3,00	0,94	12,10	
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9545	Macho		4,76	44,20	46,30	0,97	2,30	22,50	196,00		2,70	0,94	12,90	
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9547	Macho		4,74	99,90	114,50	0,84	1,80		169,00	2,35	1,50	0,61	15,80	4,10
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9613	Fêmea		15,20	164,00	23,00	1,19	2,20	14,70	190,00		1,70	0,74	14,40	2,80
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9802	Macho	4,26	4,61	425,00	76,60	1,15	2,30	22,30	223,00		4,00	0,71	11,70	
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9805	Macho	4,07	3,78	92,90	61,10	1,74	1,90		173,00		1,90		11,00	
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9837	Macho		3,45	138,00	35,50	0,89	2,00	19,30	160,00		1,50	0,66	10,30	1,60
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9937	Macho		6,08	170,00	27,30	0,85	1,60	16,70	157,00		1,70	0,81	10,60	3,20
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9938	Macho		3,10	152,00	29,10	1,20	1,20	26,20					11,20	3,20

ALT (Alanina Amino Transferase U/L), AST (Aspartato Amino Transferase U/L), CK (Creatinoquinase U/L), FA (Fosfatase Alcalina U/L), Alb. (Albumina g/dL), PT (Proteínas Totais g/dL), Gli (Glicose mg/dL), Col (Colesterol mg/dL), AU (Ácido Úrico mg/dL), Uréia (mg/dL), Crea (Creatinina mg/dL), Cal (Cálcio mg/dL), Fos (Fósforo mg/dL)

Anexo G - Valores individuais de contagem diferencial de leucócitos para *C. d. terrificus* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan -
Março a Maio de 2001. São Paulo - SP (continua...)

Espécie	Nº Animal	Sexo	Linfócitos %	Azurófilos %	Basófilos %	Heterófilos %	Heterófilos não corados %
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9303-03	Fêmea	68	15	1	11	5
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9303-12	Fêmea	70	25	1	4	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-13	Fêmea	22	39	5	34	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-14	Fêmea	80	14	1	3	2
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-15	Fêmea	76	18	0	3	3
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-18	Fêmea	61	31	0	5	3
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9306-06	Fêmea	81	11	1	5	2
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-06	Macho	70	27	1	0	2
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-10	Macho	55	25	0	20	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-17	Macho	25	69	3	1	2
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9405-07	Macho	57	23	3	17	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9903	Macho	43	50	2	4	1
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92183	Macho	56	21	3	17	3
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 91213	Macho	83	13	0	2	2
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9253	Fêmea	81	10	0	9	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9258	Fêmea	85	2	0	7	6
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92180	Fêmea	49	36	0	15	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92227	Fêmea	96	2	0	2	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9403	Fêmea	81	8	2	7	2
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9546	Fêmea	92	5	1	2	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9642	Fêmea	69	21	4	6	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9164	Fêmea	89	3	1	1	10
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 0014	Fêmea	83	11	0	3	3
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 0016	Fêmea	88	8	1	3	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 0019	Fêmea	86	10	0	4	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9304-04	Macho	60	38	0	1	1
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9303-05	Macho	87	12	0	0	1
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9912	Fêmea	56	25	2	7	10
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9702-01	Fêmea	25	66	0	7	2
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9603-04	Fêmea	76	14	0	8	2
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9403-01	Macho	77	3	0	18	2
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9402-03	Fêmea	82	5	1	12	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9402-01	Fêmea	93	7	0	0	0

Anexo G - Valores individuais de contagem diferencial de leucócitos para *C. d. terrificus* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan -

Anexo G - Valores individuais de contagem diferencial de leucócitos para *C. d. terrificus* mantidos em cativeiro no Instituto Butantan -
Março a Maio de 2001. São Paulo - SP (conclusão)

Espécie	Nº Animal	Sexo	Linfócitos %	Azurófilos %	Basófilos %	Heterófilos %	Heterófilos não corados %
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9401-02	Fêmea	89	5	0	6	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9310-03	Fêmea	35	41	0	24	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9310-02	Fêmea	43	27	0	30	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9310-01	Fêmea	92	4	0	0	4
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9105-10	Fêmea	93	5	0	1	1
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92083	Macho	92	3	1	4	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 92219	Macho	64	14	0	6	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9313-01	Macho	87	7	0	6	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9545	Macho	74	17	0	8	1
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9547	Macho	81	13	0	4	2
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9613	Fêmea	77	7	0	9	7
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9802	Macho	65	24	0	3	8
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9805	Macho	54	24	5	16	1
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9837	Macho	86	11	0	1	2
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9937	Macho	90	10	0	0	0
<i>C. d. terrificus</i>	Cdt 9938	Macho	78	16	0	5	1