

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DANIELLE SOUZA VIEIRA

VARIAÇÃO SAZONAL DOS CONSTITUINTES BIOQUÍMICOS PLASMÁTICOS DE
CASCAVÉIS *Crotalus durissus collilineatus* AMARAL, 1926 MANTIDAS EM
CATIVEIRO

UBERLÂNDIA

2015

DANIELLE SOUZA VIEIRA

VARIAÇÃO SAZONAL DOS CONSTITUINTES BIOQUÍMICOS PLASMÁTICOS DE
CASCAVÉIS *Crotalus durissus collilineatus* AMARAL, 1926 MANTIDAS EM
CATIVEIRO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade
Federal de Uberlândia, como exigência parcial para
obtenção do Título de mestre em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Saúde Animal

Orientador: Prof. Dr. Antonio Vicente Mundim

Coorientadora: Prof. Dra. Vera Lucia de Campos Brites

UBERLÂNDIA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

V658v
2015

Vieira, Danielle Souza, 1989-

Variação sazonal dos constituintes bioquímicos plasmáticos de cascavéis *crotalus durissus collilineatus* amaral, 1926 mantidas em cativeiro / Danielle Souza Vieira. - 2015.
46 f. : il.

Orientador: Antonio Vicente Mundim.

Coorientadora: **Vera Lucia de Campos Brites.**

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Serpente peçonhenta - Teses. 3. Réptil - Teses. I. Mundim, Antonio Vicente, 1950-. II. **Brites, Vera Lucia de Campos.** III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. IV. Título.

Ao meu pai Orlando e minha mãe Syrlei,
sempre presentes na minha vida,
incentivando-me a buscar o conhecimento.

Ao meu amigo e marido Diego, companheiro
em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

À Deus por tudo;

Ao meu marido, pelo amor, amizade, carinho e paciência.

Aos meus filhotes que me fazem companhia e me dão muito trabalho e amor.

A minha família e amigos que estiveram presentes me apoiando durante este período.

Ao Professor Dr. Antonio Vicente Mundim, que como orientador foi importante neste caminho de aprendizagem, me auxiliando com o conhecimento novo.

As 60 serpentes utilizadas, por darem seu sangue para que este trabalho pudesse ser realizado.

As colegas Thaís e Graciele, pelo auxílio na coleta do sangue das serpentes.

À Professora Dra. Vera Lucia de Campos Brites, que disponibilizou as serpentes e me ajudou coorientando este trabalho.

A todos os colegas do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária e do Hospital Veterinário, pela convivência e amizade.

RESUMO

As cascavéis são animais heterotérmicos, dependem de fontes externas de calor para regular a temperatura do corpo e demais processos fisiológicos. O calor varia de acordo com a estação do ano, o que dificulta a interpretação de resultados de exames laboratoriais. Objetivou-se com este trabalho conhecer as variações que ocorrem sazonalmente no perfil bioquímico de cascavéis *Crotalus durissus collilineatus* mantidas em cativeiro, e verificar a possível interferência do sexo nos resultados. Para determinar as concentrações dos parâmetros bioquímicos plasmáticos, foram coletadas amostras de sangue de 60 serpentes adultas, 30 machos e 30 fêmeas, no verão e no inverno. Os valores obtidos neste estudo são semelhantes aos descritos na literatura para serpentes, sendo as diferenças observadas provavelmente decorrentes da diferença entre espécies, clima, período do ano e metodologia utilizada. Os resultados obtidos indicaram existir influência sazonal nas concentrações de proteínas totais, albumina, globulinas, ácido úrico, creatinina, ureia, HDL-C, cálcio total, magnésio, alanina aminotransferase (ALT), gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FAL), creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH). Foram encontradas diferenças nas concentrações de colesterol, de lipoproteínas de alta densidade (HDL-C), lipoproteínas de muito baixa densidade carreadoras de colesterol (VLDL-C), triglicérides, cálcio total, cálcio ionizado e FAL ao comparar machos e fêmeas. Estes resultados reforçam a importância de se considerar a estação do ano e o sexo na interpretação dos parâmetros bioquímicos de cascavéis.

Palavras-chave: Bioquímica sanguínea. Sazonalidade. Sexo. Réptil. Viperidae. Serpentes.

ABSTRACT

Rattlesnakes are heterothermic and depend on external sources of heat to regulate its body temperature and other physiological processes. These heat sources vary according to the season and this variation difficult the interpretation of test results. The aim of this study is to determine the changes that occur seasonally in the biochemical profile of rattlesnakes and check for variations resulting from the sex of animals in captivity. For determining the concentrations of plasma biochemical parameters of rattlesnakes in captivity, 60 adult snakes were used, 30 males and 30 females. The blood of each snake was collected in summer and winter, and statistical analysis were made to verify if there was seasonal and sexual influence. The values obtained in this study are similar to those previously reported for snakes, and the differences observed are probably due to the difference between species, climate, season and methodology used. The results indicated that there are seasonal influences in the concentrations of total protein, albumin, globulin, uric acid, creatinine, urea, HDL-C, total calcium, magnesium, ALT, GGT, ALP, CK and LDH. Also differences were found between males and females concentrations of cholesterol, HDL-C, VLDL-C, triglycerides, total calcium, ionized calcium and FAL. These results reinforce the importance of considering the seasonal and sexual influence in the interpretation of biochemical parameters of rattlesnakes.

Keywords: Blood biochemistry. Season. Sex. Reptile. Viperidae. Snake.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg/dL	=	Micrograma por decilitro
A/G	=	Albumina/globulinas
ALT	=	Alanina aminotransferase
AST	=	Aspartato aminotransferase
Ca/P	=	Cálcio/Fósforo
CEUA	=	Comissão de Ética na Utilização de Animais
CK	=	Creatina quinase
cm	=	Centímetro
FAL	=	Fosfatase alcalina
<i>g</i>	=	Gravidade
g/dL	=	Grama por decilitro
GGT	=	Gama glutamiltransferase
HDL-C	=	High density lipoproteins carrier of cholesterol (Lipoproteínas de alta densidade carreadoras de colesterol).
IBAMA	=	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
ICMBio	=	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
kg	=	Quilograma
LDH	=	Lactato desidrogenase
LDL-C	=	Low density lipoproteins carrier of cholesterol (Lipoproteínas de baixa densidade carreadoras de colesterol).
mg/dL	=	Miligrama por decilitro
mL	=	Mililitro
mm	=	Milímetro
SISBio	=	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
U/L	=	Unidades internacionais por litro
VLDL-C	=	Very low density lipoproteins carrier of cholesterol (Lipoproteínas de muito baixa densidade carreadoras de colesterol).

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Médias, desvios padrão e amplitude de variação dos parâmetros bioquímicos plasmáticos de cascavéis (*Crotalus durissus collilineatus*) mantidas em cativeiro, Uberlândia, 2014..... 25
- Tabela 2. Médias e desvios padrão dos parâmetros bioquímicos plasmáticos de cascavéis (*Crotalus durissus collilineatus*) mantidas em cativeiro, de acordo com a estação do ano, Uberlândia, 2014..... 30
- Tabela 3. Médias e desvios padrão dos parâmetros bioquímicos plasmáticos de cascavéis (*Crotalus durissus collilineatus*) machos e fêmeas, mantidas em cativeiro, Uberlândia, 2014..... 34

LISTA DE FIGURAS

Figura.1. Fotografia de um espécime de cascavel (*Crotalus durissus collilineatus*) utilizado no experimento..... 21

Figura.2. Fotografias de *Crotalus durissus collilineatus*. (A) Fixação das presas solenóglifas em placas de poliestireno (Isopor®); (B) Punção do seio venoso paravertebral cervical..... 22

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1	Répteis.....	12
2.2	Serpentes.....	12
2.3	Viperídeos.....	13
2.4	Cascavel.....	14
2.5	Bioquímica sanguínea.....	15
2.5.1	Proteínas.....	16
2.5.2	Metabólitos.....	17
2.5.3	Minerais.....	18
2.5.4	Enzimas.....	19
3	METODOLOGIA.....	21
3.1	Animais.....	21
3.2	Coleta das amostras de sangue.....	22
3.3	Processamento das amostras.....	23
3.4	Análises estatísticas.....	23
3.5	Parecer ético e autorização para pesquisa com animais selvagens.....	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5	CONCLUSÕES.....	37
	REFERÊNCIAS.....	38
	ANEXO 1 - Aprovação da Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia.....	45
	ANEXO 2 - Autorização do IBAMA pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBio.....	46

1. INTRODUÇÃO

As serpentes estão classificadas no táxon dos Lepidosauria juntamente com os lagartos, anfisbenas e tuataras (POUGH; HEISER; JANIS, 2008). São aproximadamente 3500 espécies no mundo, com grande variação de tamanho, morfologia, hábitos alimentares e hábitat (UETZ; HOSEK, 2014). Possuem algumas características particulares, como o alongamento extremo do corpo com deslocamento e rearranjo dos órgãos internos, o crânio altamente cinético, permitindo a alimentação de grandes presas, não possuem membros locomotores nem orelhas média ou externa e são sensíveis às vibrações do solo. Possuem a língua bífida, que capta partículas no ar e as levam para um órgão localizado no palato, chamado órgão de Jacobson, que transmite as informações ao cérebro, identificando as partículas de odor (HICKMAN; ROBERTS; LARSON, 2001).

As cascavéis pertencem à família Viperidae e subfamília Crotalinae, que inclui as víboras com fosseta loreal e denteção solenóglifa. São serpentes terrestres e/ou arbóreas de corpo robusto, e usam a tática de tocaia para capturar suas presas. Alimentam-se geralmente de pequenos roedores e didelfimorfos e, com menos frequência, de lagartos e aves (POUGH; HEISER; JANIS, 2008).

Tem se tornado frequente o aparecimento de serpentes em áreas urbanas (BRITES; BAUAB, 1988), devido ao acelerado crescimento das cidades e da população humana, que causa aumento do desmatamento e da fragmentação das áreas naturais. Como consequência, houve aumento no número de casos de acidentes ofídicos, sendo as cascavéis responsáveis por apenas 7,7% dos casos registrados no Brasil, porém, com a maior taxa de letalidade (ARAÚJO; SANTALÚCIA; CABRAL, 2003; MELGAREJO, 2003; CARDOSO et al., 2009). Em função disso, as serpentes são criadas em cativeiro por institutos de pesquisa para obtenção de peçonha para produção de soro antiofídico e estudo de seus constituintes (SERAPICOS; MERUSSE, 2002).

Segundo a classificação de Köppen, o clima do Cerrado é do tipo Aw (clima tropical com estação seca de inverno), com chuvas de outubro a abril e seca de maio a setembro, apresentando nítida sazonalidade, com

precipitação anual variando em torno de 1.150 mm e temperatura média de 22° C (ROSA; LIMA; ASSUNÇÃO, 1991). Por serem animais heterotérmicos, as cascavéis dependem de fontes externas de calor para regular a temperatura do corpo e demais processos fisiológicos, sendo que essas fontes de calor variam de acordo com a estação do ano (BOVO et al., 2004). Essa variação dificulta a interpretação de resultados de exames laboratoriais, tornando-se necessários maiores estudos acerca da fisiologia básica desses animais para a identificação de patologias e desordens no estado de saúde da espécie.

O estudo do perfil bioquímico sanguíneo de cascavéis pode fornecer informações importantes sobre as condições metabólicas gerais destes animais, auxiliando na avaliação do estado de saúde, manutenção das populações em cativeiro, bem como, no diagnóstico, prognóstico e tratamento de várias enfermidades. Porém, a interpretação dos resultados bioquímicos nem sempre é clara, pois pode sofrer interferência de fatores como sexo, idade, sazonalidade, estado nutricional, entre outros, principalmente em animais heterotérmicos (CAMPBELL, 2006).

Objetivou-se com este trabalho conhecer as variações fisiológicas que ocorrem sazonalmente no perfil bioquímico sanguíneo de cascavéis (*Crotalus durissus collilineatus*), mantidas em cativeiro e verificar se existem variações em decorrência do sexo dos animais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Répteis

Os répteis são os primeiros animais terrestres verdadeiros, com mais de 10000 espécies ocupando diversos habitats tanto aquáticos como terrestres. No Brasil, existem cerca de 1500 espécies, sendo que mais de um terço são endêmicos (UETZ; HOSEK, 2014). Os répteis modernos derivam de duas linhagens de vertebrados amniotas, os anapsidas, que são as tartarugas, e os diapsidas, que incluem lagartos, serpentes, crocodilos, tuataras e aves (POUGH; HEISER; JANIS, 2008).

De acordo com Hickman, Roberts e Larson (2001), os répteis apresentam fertilização interna e tem o ovo amniótico com casca que pode ser posto em terra, característica que permitiu a conquista do ambiente terrestre, ao garantir ao embrião proteção contra dessecação e choques mecânicos. São heterotérmicos, ou seja, a manutenção de sua temperatura corporal depende da temperatura do ambiente, e sua pele é dura, seca, bastante queratinizada e recoberta por escamas. Não possuem diafragma, o ar entra nos pulmões pelo movimento de expansão da caixa torácica ou pela movimentação de órgãos internos (HICKMAN; ROBERTS; LARSON, 2001).

São animais uricotélicos, e o rim metanéfrico excreta ácido úrico como resíduo nitrogenado ao invés de amônia ou ureia. O ácido úrico tem uma baixa solubilidade e precipita rapidamente, permitindo a conservação de água. Por isso a urina de muitos répteis é uma suspensão semi-sólida. No entanto, os néfrons dos répteis carecem da alça de Henle, a qual permite ao rim concentrar solutos na urina. Muitos répteis possuem glândulas de sal localizadas próximo ao nariz ou olhos, que secretam um fluido salgado altamente hiperosmótico aos fluidos corporais (CAMPBELL, 2006).

2.2 Serpentes

Existem aproximadamente 3500 espécies de serpentes no planeta, sendo cerca de 390 no Brasil (UETZ; HOSEK, 2014). As serpentes originaram-se a partir dos lagartos e sofreram algumas modificações, como o

alongamento do corpo, redução e desaparecimento dos membros e cinturas pélvica e peitoral, desenvolvimento de escamas córneas salientes para auxiliar a locomoção, e especialização do crânio e do aparelho mandibular, bem como das glândulas salivares, visando permitir a ingestão de presas inteiras e auxiliar a digestão (COBORN, 1991). A abertura traqueal localiza-se a frente, entre as duas mandíbulas, de forma a permitir a respiração durante o lento processo de deglutição. As numerosas vértebras são pequenas e mais largas, permitindo rápida ondulação lateral (HICKMAN; ROBERTS; LARSON, 2001). São exclusivamente carnívoras (RAGE, 1994).

Serpentes não possuem orelhas externas nem membrana timpânica, apenas ouvido interno, e captam uma faixa limitada de frequências baixas, sendo bastante sensíveis às vibrações realizadas no solo. Para caçar suas presas, os sentidos químicos são mais utilizados do que visão e audição. A língua bifurcada capta partículas no ar e as leva para o órgão de Jacobson, uma estrutura no palato revestida de epitélio olfatório ricamente innervado que transmite as informações para o cérebro, onde são identificados os odores (HICKMAN; ROBERTS; LARSON, 2001).

Importantes ecologicamente como animais de topo de cadeia trófica, as serpentes também têm grande importância socioeconômica e farmacêutica na produção de peçonha. Esta é usada para produzir soros antiofídicos, medicamentos, além de ser objetos de várias pesquisas (MARTINS; MOLINA, 2008).

2.3 Viperídeos

Atualmente são aproximadamente 330 espécies de viperídeos no mundo, e 29 espécies no Brasil (UETZ; HOSEK, 2014). São caracterizados pela presença das presas solenóglifas, que são altamente desenvolvidas, canaliculadas e móveis. Quando não estão em uso, ficam dobradas sobre o maxilar e envolvidas por uma bainha, e durante o ataque, a boca pode abrir quase 180°, a maxila rotaciona para frente e um sistema tipo alavanca expõe e eleva as presas. Ao atingir o alvo, a bainha muscular que envolve a glândula de peçonha contrai, injetando a peçonha (HICKMAN; ROBERTS; LARSON, 2001).

As serpentes da subfamília Crotalinae possuem um receptor de calor na cabeça, entre as narinas e os olhos, chamado fosseta loreal, que são usadas para rastrear presas homeotérmicas e permitem ataques eficazes mesmo em total escuridão. O órgão é recoberto por terminações nervosas advindas do quinto par de nervos cranianos, que reagem à energia radiante em longas ondas infravermelho, sendo especialmente sensíveis ao calor emitido pelo corpo de aves e mamíferos. Estudos sugerem que a fosseta loreal consegue distinguir diferenças de temperatura de apenas 0,003°C (HICKMAN; ROBERTS; LARSON, 2001).

A maioria dos viperídeos possui escamas quilhadas, corpo robusto e cabeça triangular. As pupilas são elípticas verticalmente ou em forma de fenda, com ampla abertura e fechamento, possibilitando a visão com pouca ou muita luz. São animais de hábito geralmente noturno, e emboscam suas presas. Geralmente são vivíparas, parindo filhotes vivos, porém alguns põem ovos (POUGH; HEISER; JANIS, 2008).

2.4 Cascavel

A cascavel, *Crotalus durissus*, Linnaeus, 1758, é uma serpente da família Viperidae, subfamília Crotalinae, com ampla distribuição desde o México até a Argentina, e a única representante do gênero *Crotalus* no Brasil (CAMPBELL; LAMAR, 1989). São facilmente identificadas pela presença de um guizo ou chocalho na extremidade da cauda, que é vibrado quando a serpente se sente ameaçada, emitindo um som que afugenta os predadores (PINHO; VIDAL; BURDMANN, 2000). O guizo é uma estrutura formada a partir das trocas de pele da serpente, que vão se acumulando ao fim da cauda em forma de anéis a cada troca de pele, podendo também ser perdido em parte por quebras acidentais.

Caracterizam-se por serem terrestres, terem corpo robusto e coloração castanha, com losangos escuros pelo corpo, e o ventre mais claro. Alimentam-se quase exclusivamente de mamíferos, e raramente preda lagartos (MARTINS; LAMAR, 2010). Habitam uma vasta gama de regiões, campos abertos, áreas pedregosas com pouca vegetação, desertos, savanas e pastagens, podendo ser encontradas em florestas, embora não seja seu

habitat preferido (CAMPBELL; LAMAR, 1989). A grande maioria dos répteis não consegue sobreviver em ambientes alterados, como pastos e plantações. Já as cascavéis parecem se beneficiar destas alterações causadas pela ação humana. Sua distribuição geográfica tem aumentado devido a sua capacidade de invadir áreas abertas criadas pela derrubada de florestas tropicais (BRITES; BAUAB, 1988; MARQUES et al., 2002).

Seis subespécies de cascavéis são descritas em território brasileiro: *Crotalus durissus dryinas* Linnaeus, 1758; *Crotalus durissus cascavella* Wagler, 1824; *Crotalus durissus collilineatus* Amaral, 1926; *Crotalus durissus marajoensis* Hoge, 1966; *Crotalus durissus ruruima* Hoge, 1966 e *Crotalus durissus terrificus* (Laurenti, 1768) (BÉRNILS; COSTA, 2012). A *Crotalus durissus collilineatus* pode ser encontrada nos estados de Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais, São Paulo e Distrito Federal (MARQUES; SAZIMA, 2003), estendendo para o sul até a Argentina (HOGE; ROMANO, 1978/79). São frequentemente encontradas em pastagens e áreas de plantações de monoculturas, como milho, café e soja (VALLE; BRITES, 2012).

Na última lista de répteis de ocorrência no Brasil disponibilizada pela Sociedade Brasileira de Herpetologia (BÉRNILS; COSTA, 2012) está incluída a subespécie *Crotalus durissus collilineatus*. Após a listagem das espécies (Total = 381) mais as subespécies (totalizando 419 táxons) os autores fazem uma série de considerações, dentre elas mencionam um ponto de vista diferente para a taxonomia das subespécies *C. d. cascavella* e *C. d. collilineatus* considerando-as sinônimos de *C. d. terrificus* sugerido por Wuster et al. (2005).

2.5 Bioquímica sanguínea

A bioquímica sanguínea dos vertebrados heterotérmicos é interpretada igualmente à dos mamíferos domésticos. Entretanto, fatores externos têm maior influência sobre a fisiologia normal e saúde desses animais, portanto, devem ser levados em consideração na interpretação dos resultados. Fatores como idade, sexo, espécie, estado nutricional, sazonalidade, e estado fisiológico exercem influência sobre os constituintes bioquímicos do sangue de

répteis. Isso faz com que a interpretação dos resultados bioquímicos do sangue desses animais seja desafiador (CAMPBELL, 2006).

Análises bioquímicas séricas e/ou plasmáticas, combinadas com outros exames laboratoriais, exame físico completo e histórico clínico do paciente, são importantes ferramentas para avaliar o estado de saúde, adaptação ao ambiente onde são mantidos e para o diagnóstico das diversas enfermidades que possam acometer os répteis (RAMEH-DE-ALBUQUERQUE, 2007).

Valores de referência de parâmetros bioquímicos têm sido relatados para algumas espécies de répteis. Condições ambientais e variações fisiológicas decorrentes do estado nutricional, sexo e idade, muitas vezes não foram levados em consideração no estabelecimento dos intervalos de referência, tornando-os menos significativos. Os métodos de coleta de amostras, manuseio assim como metodologia utilizada na análise bioquímica também causam variações nos valores de referência publicados (STAHL, 2006).

2.5.1 Proteínas

As proteínas são um grupo de constituintes do sangue frequentemente mensurados. São importantes na manutenção da pressão oncótica, tamponamento de alterações do pH, imunidade humoral, atividade enzimática, coagulação e resposta de fase aguda (THRALL et al., 2007). Albumina e globulinas são as duas principais proteínas plasmáticas.

Sintetizada pelo fígado, a albumina representa a maior fração das proteínas totais. Tem como funções a manutenção da pressão oncótica do sangue, fonte primária de aminoácidos de reservas para as proteínas tissulares, desintoxicação e inativação de compostos tóxicos, transporte de ácidos graxos e de alguns minerais. As globulinas representam um grupo heterogêneo de proteínas grandes, de tamanho variável. Abrangem diversos tipos de moléculas de anticorpos, outras proteínas que atuam no sistema imune, fatores de coagulação, enzimas e proteínas transportadoras de lipídeos, vitaminas, hormônios, hemoglobina extracelular e íons metálicos (THRALL et al., 2007).

2.5.2 Metabólitos

Os metabólitos são os intermediários e os produtos do metabolismo, como o colesterol, triglicérides, creatinina, ureia, entre outros. A concentração sanguínea alterada desses metabólitos pode indicar desequilíbrio nutricional ou alguma alteração orgânica na capacidade de utilização ou biotransformação de nutrientes (MOTTA, 2008).

Em animais, o colesterol pode ser tanto de origem exógena, provenientes dos alimentos, como endógena, sendo sintetizada a partir da acetilcolina A no fígado, nas gônadas, no intestino, na glândula adrenal e na pele. O colesterol circula no plasma ligado as lipoproteínas de alta (HDL-C), baixa (LDL-C) e muito baixa densidade (VLDL-C). Os triglicérides formados nas células da mucosa intestinal, a partir dos monoglicerídeos e ácidos graxos de cadeia longa absorvidos, são transportados pelos vasos linfáticos como quilomícrons e posteriormente entram na circulação sanguínea. As concentrações plasmáticas de triglicérides e colesterol estão relacionadas a diversos fatores: à absorção de lipídeos através da dieta, à sua mobilização a partir dos tecidos, à sua utilização como fonte de energia e à capacidade de armazenamento (THRALL et al., 2007).

Principal produto final do metabolismo do nitrogênio em répteis terrestres, o ácido úrico é excretado em forma pouco solúvel e semi-sólida, sendo por isso considerado uricotélicos. É de particular interesse pela sua relação com a nefropatia por uratos. Aumento do ácido úrico pós-prandialmente ocorre em até 8 vezes os valores de cobras em jejum (CHIODINI; SUNDBERG, 1982). A determinação das concentrações sanguíneas de ácido úrico é particularmente importante uma vez que nos permite a detecção de forma prematura da hiperuricemia (gota úrica) que resulta da deposição de cristais de uratos nos tecidos e órgãos, ocasionando eventualmente a morte do animal. Embora em *B. alternatus* não se tem descrito detalhadamente este processo patológico, alguns crotálicos como *Crotalus durissus terrificus* são muito sensíveis a esta patologia (MACHADO, 1969; TROIANO et al., 1998). A dosagem de ácido úrico não é indicada para diagnosticar doença renal crônica nesses animais.

Os níveis de ureia e creatinina em répteis são baixos, devido ao fato de serem uricotélicos, indicando apenas o estado de hidratação (CAMPBELL, 2006). A concentração de ureia no sangue dos répteis é inferior a 10 mg/dL. Os valores normais de creatinina em répteis são inferiores a 1,0 mg/dL. Elevações podem ocorrer em casos de desidratação severa e doença renal, embora este parâmetro não seja considerado um bom biomarcador para doenças renais (CAMPBELL, 2007).

2.5.3 Minerais

Componentes estruturais dos tecidos corporais, os minerais participam de várias funções orgânicas e atuam nos tecidos e fluidos corporais como eletrólitos, mantendo a pressão osmótica, a permeabilidade das membranas e o equilíbrio ácido-base (THRALL et al., 2007).

Mineral mais abundante no organismo, o cálcio juntamente com o fósforo forma o fosfato de cálcio, que constitui os ossos e dentes. Além de sua importante função estrutural no sistema esquelético, o cálcio também participa de funções neuromusculares, coagulação sanguínea, permeabilidade das membranas celulares e ativação enzimática. O fósforo além de formar os ossos, atua na manutenção do equilíbrio ácido-base dos fluidos corpóreos e é um componente das enzimas vitais (FOWLER; MILLER, 1999). Está presente no sangue sob a forma de éster no interior dos eritrócitos ou como fosfolipídios e fosfatos inorgânicos no plasma (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007).

O magnésio atua como ativador de enzimas que funcionam nas reações para produção de energia e proteínas que formam a matéria prima dos tecidos (proteínas estruturais). O magnésio também auxilia no funcionamento normal dos músculos. É um elemento extremamente importante para o metabolismo de carboidratos, lipídios e dos líquidos intra e extracelular (THRALL et al., 2007).

Essencial para a maioria dos organismos vivos, o ferro participa de numerosos processos vitais, como o transporte de oxigênio para os tecidos, processos oxidativos celulares e metabolismo energético mitocondrial. Por

esta razão, sua deficiência é perigosa para o organismo. A sua sobrecarga também é indesejável, pois favorece a formação de radicais livres tóxicos (AISEN; ENNS; WESSLING-RESNICK, 2001). O ferro também tem um papel importante nas infecções, pois é essencial para o crescimento bacteriano, e também a replicação viral está associada ao aumento do metabolismo celular, que depende da sua disponibilidade (BULLEN et al., 2005).

2.5.4 Enzimas

As enzimas também são proteínas, mas possuem propriedades catalisadoras sobre reações que ocorrem nos sistemas biológicos. A atividade enzimática é constante em situações normais, e alterações em seus níveis são indicativos de disfunções orgânicas e doenças (MOTTA, 2008).

Alanina aminotransferase (ALT) é uma enzima de extravasamento que está livre no citoplasma. A atividade de ALT é menor no músculo que no fígado, mas a massa muscular total é maior que a hepática, constituindo uma fonte significativa de extravasamento (CAMPBELL, 2007), por isso a ALT não é um biomarcador sensível de doença hepática em répteis (ALMONSNY; MONTEIRO, 2007).

Aspartato aminotransferase (AST) está presente em maior concentração nos hepatócitos e nas células musculares. O aumento da atividade sérica de AST pode ser causado por necrose e lesão subletal de hepatócitos e de células musculares. A atividade plasmática da AST não é considerada órgão específico, pois essa enzima está presente em vários tecidos dos répteis. Geralmente, a atividade plasmática da AST é inferior a 250 U/L, ocorrendo aumentos em casos de lesão hepática ou em células musculares estriadas esqueléticas e cardíacas, assim como em doenças generalizadas como septicemias e toxemias, devido à necrose celular generalizada e extravasamento da mesma para a circulação (MESSONIER, 1996; ALMONSNY; MONTEIRO, 2007; CAMPBELL, 2007).

Fosfatase alcalina (FAL) tem ampla distribuição no organismo e está presente em altas concentrações nos ossos (osteoblastos), mucosa intestinal, células do epitélio dos túbulos renais, fígado e placenta. Porém, os

hepatócitos respondem pela maior parte da atividade sérica normal dessa enzima. O aumento da produção de FAL e de sua concentração sérica pode ocorrer em casos de alteração osteoblástica, colestase, indução por drogas e doenças crônicas, inclusive neoplasias. Nos distúrbios hepáticos detecta-se o aumento da concentração sérica em decorrência de colestase tanto por obstrução dos canalículos intra como extrabiliares (CAMPBELL, 2007).

Existem poucas informações sobre a interpretação de elevações da concentração sérica da fosfatase alcalina em répteis, no entanto sabe-se que esse aumento pode refletir atividade osteoblástica. A fosfatase alcalina não é órgão-específica, apresentando ampla distribuição no corpo dos répteis (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007) e durante um processo infeccioso pode apresentar significativa elevação sérica (SILVESTRE, 2003).

Gama glutamiltransferase (GGT) é considerada uma enzima de indução. Ela é sintetizada por quase todos tecidos corporais, com maior concentração no pâncreas e rins. Está presente em baixas concentrações nos hepatócitos, no epitélio dos ductos biliares e na mucosa intestinal (THRALL et al., 2007). São escassos os estudos sobre variações da enzima em répteis, especialmente nas serpentes.

Creatina quinase (CK) é uma enzima presente nos músculos esquelético, cardíaco, liso, cérebro e sistema nervoso (CAMPBELL, 2006). Está livre no citoplasma de células musculares, que quando lesadas, deixam a enzima extravasar, podendo ocorrer após injeções intramusculares, traumas e infecções sistêmicas que afetam tanto os músculos esqueléticos como os cardíacos (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007). A atividade sérica da CK aumenta rapidamente após a lesão e diminui imediatamente após sua resolução, atingindo valor máximo entre seis e 12 horas. É considerada uma enzima bastante específica na avaliação de danos musculares em mamíferos, aves e répteis. Aumento da atividade plasmática de CK é frequentemente observado em répteis que resistem e se debatem durante a contenção mecânica durante a coleta da amostra de sangue (CAMPBELL, 2007).

Lactato desidrogenase (LDH) é encontrada principalmente na musculatura esquelética, cardíaca, no fígado e eritrócitos. Também está presente nos rins, ossos e pulmões, e é normalmente alterada na presença de dano tecidual ou celular (THRALL et al., 2007).

3 METODOLOGIA

3.1 Animais

Foram utilizadas 60 serpentes adultas híbridas da subespécie *Crotalus durissus collilineatus* (Figura 1), sendo 30 machos e 30 fêmeas, mantidas em cativeiro no Setor de Manutenção de Répteis do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Uberlândia. As cascavéis deste estudo foram encaminhadas ao Setor de Répteis entre 2000 e 2013, sendo 55 espécimes provenientes da cidade de Uberlândia, 4 de Araguari e 1 de Monte Alegre. O Setor de Manutenção de Répteis é registrado pelo *Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis* (IBAMA) desde 1995 (registro nº 301283), enquadrado na categoria “Criadouro Conservacionista da Fauna Silvestre – Finalidade Científica” e coordenado pela Professora Doutora Vera Lucia de Campos Brites.

As serpentes estavam abrigadas em caixas de madeira (52 cm x 40 cm x 30 cm) com visor de vidro e a lotação era de 1 a 2 animais por caixa. Cada serpente era alimentada com camundongos *Mus musculus* (linhagem *Swiss Albina*) em média a cada 20 dias e água filtrada era oferecida a vontade e trocada periodicamente.

A média de massa corporal das serpentes utilizadas foi $1,160 \pm 0,401$ kg. Nos machos variou de 0,417 a 3,061 kg ($1,221 \pm 0,590$ kg) e nas fêmeas variou de 0,551 a 1,980 kg ($1,098 \pm 0,401$ kg).



Figura.1. Fotografia de um espécime de cascavel (*Crotalus durissus collilineatus*) utilizado no experimento.

3.2 Contenção dos animais e coleta das amostras de sangue

As serpentes foram contidas manualmente por técnicos treinados, utilizando ganchos, como indicado por Francisco (1997) e Goulart (2004). Após a contenção, as presas solenóglifas foram fixadas em placas de poliestireno (Isopor®) com o uso de pinças (Figura 2A), de maneira a impedir que o animal pudesse se soltar e permitindo livre acesso à região dorsal da cabeça da serpente.

Foram realizadas em cada serpente duas coletas de sangue, sendo uma no mês de janeiro (estação chuvosa, verão) e a outra no mês de julho (estação seca, inverno). A temperatura média registrada em janeiro de 2014 no serpentário foi $26,9\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,76\text{ }^{\circ}\text{C}$ e em julho do mesmo ano foi $19,77\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,14\text{ }^{\circ}\text{C}$. A umidade relativa do ar foi $59,35\text{ \%} \pm 7,34\text{ \%}$ em janeiro e $53,09\text{ \%} \pm 7,49\text{ \%}$ em julho. As coletas foram feitas 15 a 25 dias após a alimentação, no período da manhã, em quatro dias por estação (15 animais/dia), totalizado 60 animais por estação. As amostras foram processadas no mesmo dia da coleta.

A colheita do sangue (2 mL) foi realizada por punção do seio venoso paravertebral cervical após prévia assepsia com álcool 70% (Figura 2B), conforme descrito por Zippel, Lillywhite e Mladinich (2001). A punção foi realizada entre o osso occipital e o atlas, com agulhas hipodérmicas 0,45 x 13 mm e seringas de 5 mL, ambas descartáveis. As seringas utilizadas foram previamente umedecidas com solução de heparina de lítio para evitar a coagulação da amostra. As serpentes não foram anestesiadas para a realização da coleta do sangue.



Figura.2. Fotografias de *Crotalus durissus collilineatus*. (A) Fixação das presas solenóglifas em placas de poliestireno (Isopor®); (B) Punção do seio venoso paravertebral cervical.

3.3 Processamento das amostras

As amostras de sangue foram armazenadas em tubos de 3 mL, e posteriormente centrifugadas a 720 g durante cinco minutos em centrífuga Baby 2-Fanem® para obtenção do plasma. As análises bioquímicas foram processadas colorimetricamente em Analisador Automático de Bioquímica Chemwell (Awareness Technology®, Inc), previamente calibrado com calibra H e aferido com soro controle qualitol H da Labtest Diagnóstica®.

Os parâmetros bioquímicos analisados foram: proteínas totais (método biureto), albumina (método verde de bromocresol), globulinas (cálculo: proteínas totais – albumina), relação A/G (cálculo: albumina/globulinas), ácido úrico (método enzimático Trinder), creatinina (método picrato alcalino), ureia (método enzimático UV), colesterol (método enzimático Trinder), triglicérides (método enzimático Trinder), lipoproteínas de alta densidade carreadoras de colesterol (método acelerador detergente seletivo - Labtest), cálcio total (método cresolftaleína complexona – CPC), cálcio ionizado (cálculo: segundo recomendações do fabricante do kit), fósforo UV (método Daly e Ertingshausen modificado), relação cálcio/fósforo (cálculo: cálcio/fósforo), magnésio (método Labtest), ferro (método Goodwin modificado), alanina aminotransferase (método Cinético UV IFCC), aspartato aminotransferase (método Cinético UV IFCC), gama glutamiltransferase (método Szasz modificado), fosfatase alcalina (método Bowers e Mc Comb modificado), creatina quinase (método cinético IFCC) e lactato desidrogenase (método piruvato-lactato), utilizando kits da Labtest Diagnóstica®. As concentrações plasmáticas das lipoproteínas de baixa densidade carreadoras de colesterol e das lipoproteínas de muito baixa densidade carreadoras de colesterol foram calculadas segundo a equação de Friedewald, Levy e Fredrickson (1972).

3.4 Análises estatísticas

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial composto de 2 estações e 2 sexos, totalizando 4 tratamentos, sendo 30 animais por tratamento. Afim de verificar a normalidade dos resíduos aplicou-se o teste Anderson-Darling (AD), e para aferir a homogeneidade de

variâncias de cada variável foi aplicado o teste de Levene, considerando em ambos nível de significância de 5%. Isto possibilitou definir o teste estatístico adequado para cada parâmetro. Os pré-testes foram realizados utilizando o programa Action (EQUIPE-ESTATCAMP, 2014).

Os parâmetros albumina, proteínas totais, globulinas, creatinina, colesterol, LDL-C, cálcio, cálcio ionizado, relação cálcio/fósforo e ferro tiveram distribuição normal e homogênea. Portanto, foi aplicado análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey para comparação de médias, com nível de significância de 5%, utilizando o software SISVAR (FERREIRA, 2011).

Nos casos em que a variável original mostrou-se não normal ou com heterocedasticidade, foram testadas as transformações de dados logaritmo neperiano ($\ln(X)$) e raiz quadrada ($\text{Raiz}(X)$), conforme descrito em Banzatto e Kronka (1989). Posteriormente foram testadas novamente a normalidade e homocedasticidade. As variáveis relação A/G, ureia, HDL-C, fósforo, AST, ALT, GGT, FAL e LDH foram transformadas em log e seguiu-se a aplicação de análise de variância com o pós teste de Tukey, aplicada no software SISVAR (FERREIRA, 2011).

As variáveis ácido úrico, VLDL-C, triglicérides, magnésio e CK não atenderam os pressupostos da análise de variância, ou seja, não passaram pelo teste de normalidade de resíduos e/ou homogeneidade de variâncias. Sendo assim, foi aplicado o teste não paramétrico Wilcoxon-Mann-Whitney, com intervalo de confiança de 5%, utilizando o programa Action (EQUIPE-ESTATCAMP, 2014).

3.5 Parecer ético e autorização para pesquisa com animais selvagens

A pesquisa teve aprovação da Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia, conforme protocolo nº 149/13 (anexo 1), e autorização do ICMBio pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBio nº 42135-1 (anexo 2).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos parâmetros bioquímicos plasmáticos mensurados encontram-se nas tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1. Médias, desvios padrão e amplitude de variação dos parâmetros bioquímicos plasmáticos de cascavéis (*Crotalus durissus collilineatus*) mantidas em cativeiro, Uberlândia, 2014.

Parâmetros bioquímicos	Médias e desvios padrão	Amplitude de variação
Proteínas totais (g/dL)	5,41 ± 0,93	3,20 - 7,80
Albumina (g/dL)	1,19 ± 0,26	0,50 - 1,90
Globulinas (g/dL)	4,23 ± 0,82	2,50 - 6,50
Relação A/G	0,29 ± 0,08	0,15 - 0,54
Ácido úrico (mg/dL)	1,58 ± 0,82	0,13 - 4,8
Creatinina (mg/dL)	0,55 ± 0,23	0,11 - 1,20
Ureia (mg/dL)	6,29 ± 6,46	1,00 - 58,60
Colesterol (mg/dL)	196,65 ± 60,73	38,10 - 339,10
HDL-C (mg/dL)	27,17 ± 15,95	5,80 - 95,90
VLDL-C (mg/dL)	10,67 ± 10,17	2,82 - 58,44
LDL-C (mg/dL)	159,01 ± 56,14	22,36 - 291,50
Triglicérides (mg/dL)	53,35 ± 50,85	14,10 - 292,20
Cálcio total (mg/dL)	13,45 ± 1,74	9,98 - 16,82
Cálcio Ionizado (mg/dL)	9,74 ± 1,21	7,68 - 12,56
Fósforo (mg/dL)	3,77 ± 1,48	1,70 - 9,70
Relação Ca/P	3,98 ± 1,35	1,35 - 9,79
Magnésio (mg/dL)	2,67 ± 0,75	0,70 - 4,70
Ferro (µg/dL)	119,35 ± 47,45	31,00 - 225,00
AST (U/L)	28,88 ± 18,03	8,00 - 133,00
ALT (U/L)	14,05 ± 10,93	1,00 - 49,00
GGT (U/L)	8,30 ± 6,54	0,00 - 27,70
FAL (U/L)	66,83 ± 41,59	13,40 - 277,40
CK (U/L)	401,57 ± 304,54	30,90 - 1286,90
LDH (U/L)	282,45 ± 219,65	36,00 - 1094,00

A concentração de proteínas totais obtida foi maior que a encontrada por Troiano et al. (2001) e Silva et al. (2010) para o mesmo gênero ($3,79 \pm 0,41$ g/dL e

3,7 \pm 0,7 g/dL, respectivamente). Foi também superior aos valores encontrados para o gênero *Bothrops* (*B. jararaca*: 3,34 \pm 1,07 g/dL e *B. jararacussu* 2,94 \pm 1,31 g/dL) por Glaser et al. (2013) e para *B. ammodytoides* (4,08 \pm 0,28 g/dL) encontrado por Troiano et al. (1999). No entanto, permaneceu dentro do intervalo de 3,0 a 7,0 g/dL descrito para répteis por Campbell (2006), e de 1,9 a 7,1 g/dL descrito para cascavéis cativas no Instituto Butantan (KOLESNIKOVAS, GREGO, de ALBUQUERQUE, 2007).

A concentração de albumina manteve-se dentro da faixa de 0,4 e 3,83 g/dL descrita para cascavéis do Instituto Butantan (KOLESNIKOVAS, GREGO, de ALBUQUERQUE, 2007), e foi semelhante aos valores encontrados em cascavéis por Troiano et al. (2001) e Silva et al. (2010) (1,77 \pm 0,31 g/dL, 1,62 \pm 0,4 g/dL respectivamente). As globulinas apresentaram valores superiores a 2,03 \pm 0,29 g/dL e 2,08 \pm 0,50 g/dL encontrados por Troiano et al. (2001) e Silva et al. (2010), respectivamente. A relação albumina/globulinas foi menor que a encontrada por Chiodini e Sundberg (1982) para jiboias (0,90 \pm 0,02), e também abaixo de 0,70 a 1,10 descrito para jiboias cativas no Instituto Butantan (KOLESNIKOVAS, GREGO, de ALBUQUERQUE, 2007). Altos níveis de proteína com relação A/G normal indica desidratação (KNOTEK; KNOTKOVA; HRDA, 2011). Em répteis saudáveis a albumina é a maior fração proteica. Em condições inflamatórias pode ocorrer aumento da proteína total causada pela elevação das globulinas, e algumas doenças podem causar um decréscimo na relação albumina/globulinas (A/G). Caso a hiperproteinemia esteja associada com hipoalbuminemia e hiperglobulinemia pode indicar doença inflamatória crônica. Elevações nas concentrações de proteínas totais e globulinas, com redução da relação A/G e concentração normal de albumina indicam inflamação e infecção em serpentes (CRAY et al. 2001; STAHL, 2006), e os resultados obtidos sugerem que as cascavéis deste estudo possam apresentar alguma infecção ou tiveram contato com algum agente infeccioso do meio ambiente. De acordo com Miller (1998), répteis com lesões renais graves raramente apresentam sinais clínicos e podem parecer saudáveis. Isso reforça a importância do estudo dos parâmetros bioquímicos para avaliar a saúde destes animais.

Os valores de ácido úrico, creatinina e ureia estão de acordo com o descrito por Campbell (2006) para répteis terrestres (< 10 mg/dL, < 1,0 mg/dL e < 15 mg/dL, respectivamente), e semelhantes aos encontrados em viperídeos por Troiano et al. (2001), Kolesnikovas, Grego e de Albuquerque (2007), Silva et al. (2010) e Glaser et

al. (2013), porém, estes parâmetros não são confiáveis para avaliar a função renal destes animais. O ácido úrico é o principal produto final do metabolismo do nitrogênio em répteis terrestres, excretado em forma pouco solúvel e semi-sólida, sendo por isso considerado uricotélicos (CAMPBELL, 2006). O valor normal de ácido úrico em serpentes varia entre 2 a 6 mg/dL, e valores acima de 25 mg/dL podem ser indicativos de gota úrica (KOLESNIKOVAS; GREGO; de ALBUQUERQUE, 2007). A hiperuricemia nos répteis também pode ser devido a desidratação, dieta rica em proteínas e desnutrição grave, devido ao aumento do catabolismo de compostos nitrogenados. Répteis carnívoros tem um aumento de até duas vezes nos valores de ácido úrico após a alimentação, e para reduzir esta interferência, as coletas de sangue nas serpentes deste estudo foram realizadas com os animais em jejum. Os níveis de ureia e creatinina em répteis são baixos, devido ao fato de serem uricotélicos, indicando apenas o estado de hidratação (CAMPBELL, 2006).

Os valores de colesterol e triglicérides encontrados nesse estudo corroboram com os encontrados por Silva et al. (2010) em cascavéis e Zierer et al. (2008) em jararacas, mas Troiano et al. (2001) encontraram valores menores de colesterol e maiores de triglicérides em cascavéis. As concentrações de colesterol foram semelhantes às de cascavéis e jararacas cativas no Instituto Butantan (KOLESNIKOVAS; GREGO; de ALBUQUERQUE, 2007) e as de outros viperídeos, como *Bothrops ammodytoides* (TROIANO et al., 1999). As serpentes do presente estudo apresentaram valores de colesterol maiores e de triglicérides semelhantes aos de *Bothrops alternatus* estudadas por Troiano et al. (1998). Valores elevados de colesterol e triglicérides podem estar relacionados com doença hepática grave ou estro em fêmeas (DESSAUER, 1970). As diferenças encontradas entre o presente estudo e a literatura consultada podem ser devido a metodologia utilizada no processamento das amostras, e também as condições ambientais em que se encontram os animais. O valor de HDL-C das serpentes deste estudo corrobora com o os observados por Zierer et al. (2008) em jararacas mantidas em cativeiro ($35,6 \pm 9,29$ mg/dL) e foi inferior aos das jararacas de vida livre ($243,36 \pm 113,27$ mg/dL), pois esta lipoproteína apresenta valores mais baixos em animais sedentários. Não foram encontrados na literatura consultada dados referentes às LDL-C e VLDL-C em répteis.

A concentração média de cálcio encontrada no presente estudo foi ligeiramente superior ao valor descrito por Campbell (2006) para répteis (entre 8 e 11 mg/dL),

corroborando com os valores de cascavéis cativas estudadas por outros pesquisadores (KOLESNIKOVAS; GREGO; de ALBUQUERQUE, 2007; SILVA et al., 2010). Foi maior que $8,12 \pm 2,48$ mg/dL encontrado por Troiano et al. (2001) para o mesmo gênero, semelhante aos relatados por Troiano et al. (1998) para *Bothrops alternatus* e inferior a $20,92 \pm 1,12$ mg/dL encontrados em *Bothrops ammodytoides* por Troiano et al. (1999). Elevações nos níveis de cálcio podem ser observadas em casos de desidratação, hiperalbunemia, neoplasia e causas iatrogênicas. No entanto, Drew (1994) sugere que concentrações elevadas de cálcio e fósforo sérico pode ser um achado clínico normal na serpente *Drymarchon corais* mantida em cativeiro.

O cálcio ionizado é um parâmetro útil para avaliar doença renal e anormalidades do cálcio plasmático e assim determinar um plano terapêutico adequado. Não existem na literatura consultada estudos avaliando as concentrações de cálcio ionizado no sangue de serpentes, tornando difícil a comparação. Entretanto, os valores encontrados no presente estudo ($9,74 \pm 1,21$ mg/dL) foram superiores aos encontrados em iguanas verdes ($5,88 \pm 0,42$ mg/dL) por Dennis et al. (2001), em tartarugas da amazônia ($4,41 \pm 0,60$ mg/dL) por Santos et al. (2005) e em cágados de barbicha recém capturados em duas áreas com diferentes tipos de ações antrópicas (área agrícola: machos = $1,68 \pm 0,6$ mg/dL, fêmeas = $2,32 \pm 0,64$ mg/dL; área urbana: machos = $4,28 \pm 0,72$ mg/dL, fêmeas = $4,52 \pm 0,76$ mg/dL) estudados por Brites (2002).

A concentração de fósforo manteve-se dentro do intervalo de 1 e 5 mg/dL descrito por Campbell (2006) para répteis e semelhante aos encontrados por outros pesquisadores (TROIANO et al., 1998; 1999; 2001; KOLESNIKOVAS; GREGO; de ALBUQUERQUE, 2007; SILVA et al., 2010). De acordo com Campbell (2006) a relação cálcio/fósforo normal para répteis é de 2:1, ocorrendo inversão nessa relação em caso de doença renal grave. O valor obtido para a relação Ca:P no presente estudo foi superior ao citado por Campbell (2006), no entanto sem inversão da relação.

As concentrações de magnésio encontradas neste estudo foram semelhantes às encontradas em viperídeos por Troiano et al. (1998, 2001) e inferior a relatada para *B. ammodytoides* ($6,28 \pm 0,78$ mg/dL) por Troiano et al. (1999). A determinação da concentração sérica do magnésio é útil na avaliação de distúrbios metabólicos. Valores diminuídos do magnésio no sangue ocorrem em situações de má nutrição,

pancreatite e distúrbios na glândula tireoide e elevações em estado de desidratação (THRALL et al., 2007).

As concentrações de ferro foram semelhantes às encontradas por Chiodini e Sundberg (1982) em jiboias ($90 \pm 3 \mu\text{g/dL}$), mantendo dentro da faixa de 61 e 147 $\mu\text{g/dL}$ descrita para jiboias cativas do Instituto Butantan (KOLESNIKOVAS; GREGO; de ALBUQUERQUE, 2007). O ferro é essencial para o organismo, pois atua no metabolismo energético mitocondrial e no transporte de oxigênio (AISEN; ENNS; WESSLING-RESNICK, 2001). Também tem um papel importante nas infecções, pois é essencial para o crescimento bacteriano, e a queda na sua concentração pode ser um mecanismo de defesa contra os micro-organismos patogênicos (RADTKE; O'RIORDAN, 2009).

Os valores de AST e ALT obtidas foram semelhantes à de outros estudos (TROIANO et al., 1998; 1999; 2001; CAMPBELL, 2006; SILVA et al., 2010). A concentração de LDH corroborou com Troiano et al. (1998) para *B. alternatus*, Dutton e Taylor (2003) para viperídeos e Lamirande et al. (1999) para o colubrídeo *Boiga irregularis*. A enzima ALT não é considerada órgão específico em répteis, portanto, não é um parâmetro confiável para a detecção de doença hepática. As enzimas AST e LDH tem ampla distribuição no corpo dos répteis, e elevações nestes valores podem indicar lesão hepática ou muscular.

A atividade de GGT foi semelhante ao obtido por Troiano et al. (1998) para *B. alternatus*, e dentro da faixa para viperídeos estudados por Dutton e Taylor (2003). A atividade de GGT no fígado é muito baixa e sua dosagem não é um teste sensível para répteis, por não se encontrar elevada em doenças hepáticas nem renais, apesar de possuir atividade nesses tecidos (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007).

A concentração de FAL foi semelhante à de cascavéis estudados por Silva et al. (2010) e foi superior encontrada por Troiano et al. (1998, 2001) em viperídeos. Aumentos nos níveis de fosfatase alcalina podem refletir um aumento da atividade dos osteoblastos (THRALL et al., 2007).

Utilizada para avaliar danos nas células musculares esqueléticas e cardíacas, a CK é considerada uma enzima específica do músculo. A concentração plasmática de CK nas serpentes deste estudo corroborou com os achados em serpentes cativas no instituto Butantan (KOLESNIKOVAS; GREGO; de ALBUQUERQUE, 2007), viperídeos (DUTTON; TAYLOR, 2003) e os colubrídeos *Boiga irregularis* (LAMIRANDE et al., 1999) e *Thamnophis* sp. (WACK et al., 2012). Elevações nos

valores de CK no sangue são frequentemente observados quando há lesão no músculo durante a coleta ou quando o animal tenta resistir à imobilização (CAMPBELL, 2006).

Tabela 2. Médias e desvios padrão dos parâmetros bioquímicos plasmáticos de cascavéis (*Crotalus durissus collilineatus*) mantidas em cativeiro, de acordo com a estação do ano, Uberlândia, 2014.

Parâmetros bioquímicos	Inverno	Verão
Proteínas totais (g/dL)	5,12 ± 0,82 b	5,70 ± 0,94 a
Albumina (g/dL)	1,11 ± 0,22 b	1,26 ± 0,28 a
Globulinas (g/dL)	4,01 ± 0,70 b	4,44 ± 0,87 a
Relação* A/G	0,28 ± 0,06 a	0,30 ± 0,09 a
Ácido úrico** (mg/dL)	1,75 ± 0,66 a	1,40 ± 0,92 b
Creatinina (mg/dL)	0,63 ± 0,23 a	0,48 ± 0,21 b
Ureia* (mg/dL)	3,85 ± 2,26 b	8,69 ± 8,17 a
Colesterol (mg/dL)	187,23 ± 55,27 a	205,90 ± 64,97 a
HDL-C* (mg/dL)	20,53 ± 12,94 b	33,70 ± 16,03 a
VLDL-C** (mg/dL)	9,72 ± 6,60 a	11,60 ± 12,74 a
LDL-C (mg/dL)	157,39 ± 52,07 a	160,61 ± 60,28 a
Triglicérides** (mg/dL)	48,61 ± 33,01 a	58,02 ± 63,68 a
Cálcio total (mg/dL)	13,03 ± 1,64 b	13,86 ± 1,75 a
Cálcio Ionizado (mg/dL)	9,59 ± 1,16 a	9,88 ± 1,24 a
Fósforo* (mg/dL)	3,68 ± 1,27 a	3,85 ± 1,67 a
Relação Ca/P	3,86 ± 1,18 a	4,10 ± 1,50 a
Magnésio** (mg/dL)	2,49 ± 0,65 b	2,84 ± 0,82 a
Ferro (µg/dL)	117,31 ± 39,30 a	121,37 ± 54,55 a
AST* (U/L)	27,95 ± 15,62 a	29,80 ± 20,21 a
ALT* (U/L)	17,76 ± 10,74 a	10,40 ± 9,90 b
GGT* (U/L)	6,82 ± 6,57 b	9,76 ± 6,21 a
FAL* (U/L)	44,81 ± 20,67 b	88,49 ± 45,59 a
CK** (U/L)	324,67 ± 276,97 b	477,18 ± 313,61 a
LDH* (U/L)	331,12 ± 250,81 a	234,60 ± 173,07 b

* Variáveis transformadas em log seguido de ANOVA com pós teste Tukey.

** Teste de Wilcoxon-mann-Whitney, demais elementos ANOVA com pós teste Tukey.

(a,b) Letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa entre as estações do ano.

As concentrações de proteínas totais, albumina e globulinas foram maiores no verão, não sendo observada diferença significativa para a relação A/G (Tabela 2). Em seu estudo com a jibóia *Boa constrictor constrictor* Lima et al. (2012) não verificaram diferença significativa entre inverno e verão amazônicos para os mesmos parâmetros bioquímicos. A serpente *Morelia spilota imbricata* apresentou concentrações de albumina e relação A/G maiores no verão (BRYANT et al., 2012). Al-Badry e Nuzhy (1983) também encontraram valores menores de proteínas totais, albumina e globulinas no inverno em viperídeos do gênero *Cerastes* em hibernação. Atribui-se a menor concentração de proteínas totais, albumina e globulinas nas serpentes do presente estudo durante o inverno, à redução na ingestão de alimentos e ao catabolismo proteico, ocasionando uma diminuição nas concentrações de proteínas totais, albumina e globulinas e aumento nas concentrações de ácido úrico (AL-BADRY; NUZHY, 1983).

As concentrações de ácido úrico e creatinina foram maiores no inverno, e de ureia no verão (Tabela 2). Silva et al. (2011) também encontraram valores superiores de ácido úrico no inverno para *Boa constrictor amarali*, enquanto Lima et al. (2012) não verificaram diferença sazonal desse parâmetro em *Boa constrictor constrictor*. A concentração plasmática de ureia foi maior durante a atividade normal na serpente *Hierophis gemonensis* em comparação com o período de hibernação, podendo refletir uma maior necessidade de energia durante este período (COZ-RAKOVAC et al., 2011). Porém, Carmichael e Petcher (1945) encontraram aumento significativo nas concentrações de ureia e ácido úrico em espécimes em atividades normais comparada com aquelas em hibernação. Campbell (2006) afirma que durante a estação úmida, as concentrações de ácido úrico e ureia tendem a ser menores em função das taxas elevadas de consumo de água, e consequente esvaziamento da bexiga. Durante o inverno e a hibernação ocorre aumento nas concentrações de ácido úrico em função do aumento do catabolismo proteico, no qual o principal produto final é o ácido úrico (AL-BADRY; NUZHY, 1983). O aumento do ácido úrico e creatinina nas serpentes desse estudo pode ser decorrente de um maior catabolismo de proteínas musculares de reservas, devido a redução na ingestão de alimentos durante o período de inverno. Comportamento inverso ocorreu com a ureia, onde maior concentração plasmática foi observada durante o verão, período no qual as serpentes se alimentam normalmente e o metabolismo de carboidratos no intestino está ocorrendo normalmente.

No presente estudo não houve diferença sazonal para os parâmetros colesterol, VLDL-C, LDL-C e triglicérides (Tabela 2). A concentração de HDL-C foi menor no inverno, possivelmente devido a atividade metabólica reduzida, já que esta lipoproteína apresenta valores menores em animais sedentários. Os achados não corroboram com o descrito por Carmichael e Petcher (1945), os quais encontraram valores maiores de colesterol em *Crotalus horridus* ativas comparada às hibernantes. Apesar disso, se assemelham ao relatado por Silva et al. (2011) e Dutton e Taylor (2003), que não encontraram diferença na concentração de colesterol em jiboias (*Boa constrictor amarali*) de cativeiro e de colesterol e triglicérides em viperídeos, respectivamente.

As concentrações de magnésio e cálcio total foram maiores no verão nos animais estudados. Entretanto, fósforo, cálcio ionizado, relação cálcio/fósforo e ferro não apresentaram diferença sazonal significativa (Tabela 2). Tais achados corroboram parcialmente com as citações de Dutton e Taylor (2003) e Coz-Rakovac et al. (2011), em que os valores de cálcio e fósforo não sofreram influência da sazonalidade. Porém, Lima et al. (2012) obtiveram valores maiores de cálcio no inverno amazônico, que corresponde ao mês de janeiro, época úmida e quente na região sudeste. Provavelmente, a maior concentração de cálcio no verão está relacionada à reprodução das cascavéis, que segundo Argáez (2006), no Sudeste brasileiro, acontece na primavera, com nascimento dos filhotes no verão. Nesta fase, as fêmeas produzem o vitelo e casca dos ovos, o que pode justificar o aumento na concentração plasmática de cálcio (CAMPBELL, 2006). As concentrações de fósforo inorgânico, cálcio e magnésio encontradas por Carmichael e Petcher (1945) foram menores em *C. horridus* hibernantes (inverno). No entanto, serpentes do gênero *Cerastes* estudadas por Al-Badry e Nuzhy (1983) apresentaram maiores concentrações sanguíneas de magnésio no inverno, sendo esta uma característica típica de hibernação em répteis (DESSAUER, 1970). A subespécie *C. d. collilineatus*, de região tropical, não possui a característica de hibernação, portanto, a menor concentração de magnésio no inverno possivelmente se deve à redução na ingestão de alimentos.

As atividades das enzimas GGT, FAL e CK foram superiores no verão, e de LDH e ALT no inverno (Tabela 2). A atividade de AST não apresentou diferença sazonal (Tabela 2). Esses achados não foram condizentes aos encontrados por Silva et al. (2011), que observaram aumento significativo de AST no verão, e por

Lima et al. (2012), os quais relataram maior atividade de AST e ALT no verão, sem diferença sazonal nos valores de LDH e FAL. Também não corroboram com o estudo de Coz-Rakovac et al. (2011) em serpentes *Hierophis gemonensis*, que retrataram maior atividade enzimática de AST e CK durante o inverno. Entretanto, corrobora em parte com o autor acima citado, que retratou maior atividade de LDH durante o período de hibernação. Já os viperídeos estudados por Dutton e Taylor (2003) não apresentaram variação sazonal significativa das enzimas CK, AST, FAL, GGT e LDH. Concentrações elevadas de AST, CK e LDH indicam lesões musculares em vertebrados (CAMPBELL, 2006). Provavelmente as serpentes também podem usar o tecido muscular como fonte de energia durante os meses de inverno (COZ-RAKOVAC et al., 2011), justificando assim os maiores valores de LDH nas cascavéis desse estudo.

Tabela 3. Médias e desvios padrão dos parâmetros bioquímicos plasmáticos de cascavéis (*Crotalus durissus collilineatus*) machos e fêmeas, mantidas em cativeiro, Uberlândia, 2014.

Parâmetros bioquímicos	Machos	Fêmeas
Proteínas totais (g/dL)	5,55 ± 0,97 a	5,28 ± 0,87 a
Albumina (g/dL)	1,19 ± 0,26 a	1,18 ± 0,26 a
Globulinas (g/dL)	4,35 ± 0,85 a	4,10 ± 0,76 a
Relação* A/G	0,28 ± 0,08 a	0,30 ± 0,08 a
Ácido úrico** (mg/dL)	1,46 ± 0,78 a	1,69 ± 0,85 a
Creatinina (mg/dL)	0,58 ± 0,24 a	0,53 ± 0,23 a
Ureia* (mg/dL)	6,96 ± 7,68 a	5,61 ± 4,90 a
Colesterol (mg/dL)	185,59 ± 66,44 b	207,89 ± 52,52 a
HDL-C* (mg/dL)	21,27 ± 11,85 b	33,17 ± 17,39 a
VLDL-C** (mg/dL)	8,80 ± 7,59 b	12,58 ± 12,02 a
LDL-C (mg/dL)	155,93 ± 62,35 a	162,15 ± 49,38 a
Triglicérides** (mg/dL)	43,99 ± 37,97 b	62,88 ± 60,09 a
Cálcio total (mg/dL)	12,83 ± 1,52 b	14,08 ± 1,74 a
Cálcio Ionizado (mg/dL)	9,25 ± 1,05 b	10,23 ± 1,17 a
Fósforo* (mg/dL)	3,56 ± 1,32 a	3,98 ± 1,62 a
Relação Ca/P	3,99 ± 1,32 a	3,97 ± 1,38 a
Magnésio** (mg/dL)	2,65 ± 0,64 a	2,68 ± 0,86 a
Ferro (µg/dL)	119,00 ± 47,52 a	119,71 ± 47,78 a
AST* (U/L)	31,27 ± 22,69 a	26,46 ± 11,22 a
ALT* (U/L)	13,50 ± 9,66 a	14,61 ± 12,14 a
GGT* (U/L)	8,48 ± 5,95 a	8,12 ± 7,13 a
FAL* (U/L)	75,13 ± 46,05 a	58,40 ± 34,91 b
CK** (U/L)	418,29 ± 309,99 a	384,56 ± 300,59 a
LDH* (U/L)	296,93 ± 223,52 a	267,73 ± 216,54 a

* Variáveis transformadas em log seguido de ANOVA com pós teste Tukey.

** Teste de Wilcoxon-mann-Whitney, demais elementos ANOVA com pós teste Tukey.

(a,b) Letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa entre os sexos.

Não houve diferença estatística entre machos e fêmeas para proteínas totais, albumina, globulinas e relação A/G (Tabela 3). Achado condizente com Bryant et al. (2012) que não encontraram diferença significativa entre machos e fêmeas para os mesmos parâmetros. A serpente *Hierophis gemonensis* não apresentou variação

significativa entre machos e fêmeas para proteínas totais (COZ-RAKOVAC et al., 2011). Dutton e Taylor (2003) não encontraram diferença entre os sexos de viperídeos para os parâmetros proteínas totais e globulinas, mas a albumina apresentou diferença significativa. No estudo de Lamirande et al. (1999) com *B. irregularis* as concentrações plasmáticas de proteínas totais e albumina foram maiores nas fêmeas. Segundo Campbell (2006), no período de foliculogênese há uma hiperproteinemia por causa do aumento na fração globulinas induzido pelo estrógeno e na fração albumina associada à vitelogênese em répteis fêmeas.

Não houve diferença estatística entre machos e fêmeas para ácido úrico, ureia e creatinina (Tabela 3). Estudos com outras espécies de serpentes não evidenciaram diferença significativa nas concentrações de ácido úrico (LAMIRANDE et al., 1999; DUTTON; TAYLOR, 2003; BRYANT et al., 2012) e de ureia (COZ-RAKOVAC et al., 2011) entre machos e fêmeas.

As fêmeas apresentaram concentrações maiores de colesterol, HDL-C, VLDL-C, triglicérides e os valores de LDL-C foram semelhantes para machos e fêmeas (Tabela 3). Dutton e Taylor (2003) e Coz-Rakovac et al. (2011) não encontraram diferença significativa nas concentrações de colesterol e triglicérides nas serpentes estudadas. De acordo com Campbell (2006), dentro do período reprodutivo as concentrações plasmáticas de colesterol e triglicérides são significativamente maiores em fêmeas de iguanas verdes do que em machos, podendo esses maiores valores de colesterol e triglicérides estarem relacionados com estro em fêmeas (DESSAUER, 1970).

No presente estudo, as fêmeas apresentaram maiores concentrações de cálcio total e cálcio ionizado em relação aos machos, não sendo observada diferença significativa nas concentrações de fósforo, magnésio, ferro e na relação Ca/P entre machos e fêmeas (Tabela 3). Dutton e Taylor (2003), Coz-Rakovac et al. (2011) e Bryant et al. (2012) não encontraram diferença significativa nas concentrações de cálcio e fósforo nas serpentes estudadas. As fêmeas de *Boiga irregularis* apresentaram concentrações de cálcio e fósforo maiores em relação aos machos (LAMIRANDE et al., 1999). Aumento de duas a quatro vezes nos níveis de cálcio durante o desenvolvimento folicular antes da ovulação pode ser observado nas serpentes em resposta ao estrógeno (CAMPBELL, 2006). Dessasuer (1970) afirmou que o cálcio pode ser superior a 200mg/dL durante o estro em serpentes. Répteis fêmeas geralmente têm aumento nas concentrações de cálcio total e fósforo durante

a gravidez, que são usadas como reservas corporais e são mobilizadas durante a produção de vitelo e deposição da casca. Do mesmo modo, a relação Ca/P pode ser afetada pela vitelogênese (CAMPBELL, 2006). Embora, a concentração plasmática de fósforo e o valor da relação Ca/P nas serpentes do presente estudo não apresentaram diferença significativa.

Não houve diferença significativa na atividade das enzimas ALT, AST, GGT, LDH e CK entre machos e fêmeas (Tabela 3). Os machos apresentaram maior atividade da enzima FAL (Tabela 3). Dutton e Taylor (2003) não encontraram diferença significativa entre machos e fêmeas na atividade das enzimas AST, GGT, CK e LDH, mas FAL apresentou diferença significante. Lamirande et al. (1999) e Coz-Rakovac et al. (2011) não encontraram diferença significativa entre os sexos na atividade das enzimas AST, LDH, CK e FAL nas serpentes estudadas. Com relação às diferenças intersexuais, maior atividade plasmática da fosfatase alcalina foi observada em sucuri *Eunectes murinus* machos por Calle et al. (1994) e por Rameh-de-Albuquerque (2007) em *Crotalus durissus collilineatus*, *Crotalus durissus terrificus* e *Bothrops alternatus*, embora não sugeriram uma provável causa para tal achado. Embora se saiba que elevações da atividade da fosfatase alcalina sanguínea refletem atividade osteoblástica, doença hepatobiliar (CAMPBELL, 2006; ALMOSNY; MONTEIRO, 2006) ou processo infeccioso (SILVESTRE, 2003), atribui-se o maior valor observado nos machos deste estudo a doença hepatobiliar ou contato com algum agente infeccioso, uma vez que as cascavéis aqui estudadas foram capturadas no meio ambiente e eram adultas.

Os resultados do presente estudo poderão contribuir no estabelecimento de valores de referência para planos de conservação dessa espécie em cativeiro, e reforçam a importância de se considerar a estação do ano e o sexo na interpretação dos parâmetros bioquímicos de cascavéis.

5 CONCLUSÕES

- As estações do ano influenciam nos valores de 14 (58%) dos parâmetros bioquímicos plasmáticos estudados: proteínas totais, albumina, globulinas, ácido úrico, creatinina, ureia, HDL-C, cálcio total, magnésio, ALT, GGT, FAL, CK e LDH.
- O sexo influencia nos valores de 7 (29,2%) dos parâmetros bioquímicos plasmáticos estudados: colesterol, HDL-C, VLDL-C, triglicérides, cálcio total, cálcio ionizado e FAL.
- Os resultados obtidos reforçam a importância de se considerar a estação do ano e o sexo na interpretação dos parâmetros bioquímicos de cascavéis.

REFERÊNCIAS

- AISEN, P.; ENNS, C.; WESSLING-RESNICK, M. Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, Exeter, v. 33, n. 10, p. 940-959, 2001.
- AL-BADRY, K. S.; NUZHY, S. Hematological and biochemical parameters in active and hibernating sand vipers. **Comparative Biochemistry and Physiology: Part A, Molecular and Integrative Physiology**, New York, v. 74, n. 1, p. 137-141, 1983.
- ALMOSNY, N. R. P.; MONTEIRO, A. M. Patologia clínica. In: CUBAS, Z S; SILVA, J C R; CATÃO-DIAS, J L (Eds.). **Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. Cap. 59, p. 939-966.
- ARAÚJO, F. A. A.; SANTALÚCIA, M.; CABRAL, R. F. Epidemiologia dos acidentes por animais peçonhentos. In: CARDOSO, J L C et al (Org.). **Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Savier, 2003. Cap. 2. p. 6-12.
- ARGÁEZ, M. A. H. **Ecologia da cascavel (Viperidae, *Crotalus durissus*) no Cerrado brasileiro**. 2006. 47 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. Jaboticabal: FUNEP, 1989. 247 p.
- BÉRNILS, R. S.; COSTA, H. C. (Org.). **Répteis brasileiros: Lista de espécies**. Versão 2012.1. Sociedade Brasileira de Herpetologia. 2012. Disponível em: <<http://www.sbherpetologia.org.br/>>. Acesso em: 10 out. 2014.
- BOVO, R. P.; MICHELI, M. A.; ABE, A. S.; ANDRADE, D. V. Variação sazonal da temperatura corpórea em jibóias, *Boa constrictor amarali*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 25., 2004, Brasília. **Anais...** Brasília, 2004. p. 387.
- BRITES, V. L. C.; BAUAB, F. A. Fauna ofidiana do município de Uberlândia Minas Gerais - Brasil: I. Ocorrência na área urbana. **Revista do Centro de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia**, Uberlândia, v. 4, n. 1, p.3-8, 1988.
- BRITES, V. L. C. **Hematologia, bioquímica do sangue, parasitologia, microbiologia, algas epizoárias e histopatologia de *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) (Testudinata, Chelidae), expostos a diferentes influências antrópicas no rio Uberabinha, Minas Gerais**. 2002. 196 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2002.
- BRYANT, G. L.; FLEMING, P. A.; TWOMEY, L.; WARREN, K. S. Factors affecting haematology and plasma biochemistry in the southwest carpet python (*Morelia*

spilota imbricata). **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 48, n. 2, p. 282-294, 2012.

BULLEN, J. J.; ROGERS, H. J.; SPALDING, P. B.; WARD, C. G. Iron and infection: the heart of the matter. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 43, n. 3, p.325-330, mar. 2005.

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**, Lawrence, v. 25, n. 1, p. 53-62, 1994.

CAMPBELL, J. A.; LAMAR, W. W. **The venomous reptiles of Latin America**. Ithaca: Cornell University Press, 1989. 425 p.

CAMPBELL, T. W. Clinical pathology of reptiles. In: MADER, D R (Ed.). **Reptile medicine and surgery**. St. Louis: Saunders Elsevier, 2006. Cap. 22. p. 490-530.

CAMPBELL, T. W. Bioquímica clínica de répteis. In: THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica Veterinária**. 1ª Ed., São Paulo: Editora Roca Ltda, 2007. p.461-472.

CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MALAQUE, C. M. S.; HADDAD JÚNIOR, V. **Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes**. 2. ed. São Paulo: Savier, 2009. 540 p.

CARMICHAEL, E. B.; PETCHER, P. W. Constituents of the blood of the hibernating and normal rattlesnakes *Crotalus horridus*. **The Journal of biological chemistry**, Bethesda, v.161, n. 2, p. 693-696, 1945.

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

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

COZ-RAKOVAC, R.; LISICIC, D.; SMUC, T.; POPOVIC, N. T.; STRUNJAK-PEROVIC, I.; JADAN, M.; TADIC, Z.; DUJAKOVIC, J. J. Classification modeling of physiological stages in captive Balkan Whip snakes using blood biochemistry parameters. **Journal of Herpetology**, Athens, v. 45, n. 4, p. 525-529, 2011.

CRAY, C.; VARELLA, R.; BOSSART, G. D.; LUTZ, P. Altered in vitro immune responses in green turtles (*Chelonia mydas*) with fibropapillomatosis. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 32, n. 4, p. 436-440, 2001.

DENNIS, P. M.; BENNETT, R. A.; HARR, K. E.; LOCK, B. A. Plasma concentration of ionized calcium in healthy iguanas. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 219, n. 3, p. 326-328, 2001.

DESSAUER, H. C. Blood chemistry of reptiles: physiological and evolutionary aspects. In: GANS, C.; PARSONS, T. S. (Ed.). **Biology of the Reptilia**. London: Academic Press, 1970. Cap. 1. p. 1-72.

DREW, M. L. Hypercalcemia and hyperphosphatemia in indigo snakes (*Drymarchon corais*) and serum biochemical reference values. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 25, n.1, p. 48-52, 1994.

DUTTON, C. J.; TAYLOR, P. A comparison between pre- and posthibernation morphometry, hematology, and blood chemistry in viperid snakes. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 34, n. 1, p. 53-58, 2003.

EQUIPE ESTATCAMP (2014). **Software Action**. Estatcamp - Consultoria em estatística e qualidade, São Carlos - SP, Brasil. URL <http://www.portalaction.com.br/>.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, (UFLA), Lavras, v. 35, n. 6, p.1039-1042, 2011.

FOWLER, M. E.; MILLER, R. E. **Zoo and Wild Animal Medicine: current therapy**. 4. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1999. 747 p.

FRANCISCO, L. R. **Répteis do Brasil: manutenção em cativeiro**. São José dos Pinhais: Amaro, 1997. 207 p.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v.18, n. 6, p. 499-502, 1972.

GLASER, V.; BONI, A. P.; PITZ, H. S.; de ALBUQUERQUE, C. A. C.; ZENI, A. L. B. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de *Bothropoides jararaca* e *Bothrops jararacussu* (Ophidia-Viperidae) mantidas em cativeiro. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 18, n. 3, p.68-74, 2013.

GOULART, C. E. S. **Herpetologia, Herpetocultura e Medicina de Répteis**. Rio de Janeiro: L.F. Livros e Veterinária, 2004. 330 p.

HICKMAN, J. R.; ROBERTS, L. S.; LARSON, A. **Integrated Principles of Zoology**. 11. ed. New York: Mcgraw-hill Higher, 2001. 899 p.

HOGUE, A. R.; ROMANO, S. A. R. W. D. L. Sinopse das serpentes peçonhentas do Brasil. 2. ed. **Memórias do Instituto Butantan**, São Paulo, v. 42/43, p. 373-497, 1978/79.

KNOTEK, Z.; KNOTKOVA, Z.; HRDA, A. Clinical haematology and plasma chemistry in reptiles. In: SOUTHERN EUROPEAN VETERINARY CONFERENCE (SEVC), 5., 2011, Barcelona. **Proceedings of the Southern European Veterinary Conference**. Barcelona, 2011.

KOLESNIKOVAS, C. K. M.; GREGO, K. F.; de ALBUQUERQUE, L. C. R. Ordem Squamata: Subordem Ophidia (Serpente). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Eds.). **Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. Cap. 8. p. 68-79.

LAMIRANDE, E. W.; BRATTHAUER, A. D.; FISHER, D. C.; NICHOLS, D. K. Reference hematologic and plasma chemistry values of brown tree snakes (*Boiga irregularis*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 30, n. 3, p. 516-520, 1999.

LIMA, D. J. S.; BASTOS, R. K. G.; SEIXAS, L. S.; LUZ, M. A.; BRANCO, E. R.; de SOUZA, N. F.; de MORAES, C. C. G.; MENESES, A. M. C. Variação sazonal dos valores de bioquímica sérica de jiboias amazônicas (*Boa constrictor constrictor*) mantidas em cativeiro. **Biotemas**, Florianópolis, v. 25, n. 4, p. 165-173, 2012.

MACHADO, J. C. Incidência e comprometimento cardíaco pela gota úrica em *Crotalus*. **Memórias do Instituto Butantan**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 159-164, 1969.

MARQUES, A. A. B.; FONTANA, C. S.; VÉLEZ, E.; BENCKE, G. A.; SCHNEIDER, M.; dos REIS, R. E. (org.). 2002. **Lista das Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção no Rio Grande do Sul**. Decreto nº 41.672, de 11 de junho de 2002. Porto Alegre, FZB/MCTPUCRS/PANGAEA. 52p.

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. A.; HADDAD JÚNIOR, V. (Orgs). **Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. p. 62-71.

MARTINS, M.; LAMAR, W. W. ***Crotalus durissus***: The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. 2010. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/details/178477/0>>. Acesso em: 03 out. 2014.

MARTINS, M.; MOLINA, F. B. Panorama geral dos répteis ameaçados do Brasil. In: MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. (Ed.). **Livro vermelho da Fauna Brasileira ameaçada de extinção**. Brasília/Belo Horizonte: Ministério do Meio Ambiente/fundação Biodiversitas, 2008. p. 327-334.

MELGAREJO, A. R. Serpentes peçonhentas do Brasil. In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M. S. A.; HADDAD JÚNIOR, V. (Orgs). **Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. Cap.4, p.36-61.

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

MILLER, H. A. Urinary diseases of reptiles: pathophysiology and diagnosis. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, Baton Rouge, v. 7, n. 2, p. 93-103, 1998.

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o laboratório: princípios e interpretações**. 5. ed. Rio de Janeiro: Medbook, 2008. 419 p.

PINHO, F. O.; VIDAL, E. C.; BURDMANN, E. A. Atualização em insuficiência renal aguda: insuficiência renal aguda após acidente crotálico. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 22, n. 3, p.162-168, 2000.

POUGH, F. H.; HEISER, J. B.; JANIS, C. M. **A vida dos vertebrados**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 684 p.

RADTKE, A. L.; O'RIORDAN, M. X. Intracellular innate resistance to bacterial pathogens. **Cellular Microbiology**, Oxford, v. 8, n. 11, p. 1720-1729, 2009.

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

RAMEH-DE-ALBUQUERQUE, L. C. **Aspectos hematológicos, bioquímicos e citoquímicos de células sanguíneas em Viperídeos neotropicais dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus* mantidos em cativeiro**. 177f. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Patologia, Universidade de São Paulo), 2007.

ROSA, R.; LIMA, S. C.; ASSUNÇÃO, W. L. Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia, MG. **Revista Sociedade & Natureza**, Uberlândia, v. 3, n. 5/6, p.91-108, 1991.

SANTOS, A. L. Q.; MALTA, T. S.; MUNDIM, A. V.; ALVES-JÚNIOR, J. R. F.; CARVALHO, S. F. M. Variação dos constituintes bioquímicos sanguíneos de tartarugas-da-amazônia (*Podocnemis expansa*, Schweigger – 1812) (Testudinata) mantidas em criatório comercial. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 10, n. 3, p. 1-8, 2005.

SERAPICOS, E. O.; MERUSSE, J. L. B. Variação de peso e sobrevida de *Micrurus corallinus* sob diferentes condições de alimentação em biotério (serpentes, Elapidae). **Iheringia: Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 92, n. 4, p.105-109, 2002.

SILVA, L. F. N.; RIANI-COSTA, C. C. M.; RAMOS, P. R. R.; TAKAHIRA, R. K. Seasonal influence on biochemical profile and serum protein electrophoresis for *Boa constrictor amarali* in captivity. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 71, n. 2, p. 517-520, 2011.

SILVA, W. B.; SOARES, R. M.; MACHADO, C.; FREIRE, I. M. A.; DA SILVA, L. C. C. P.; MOREIRA S. B.; GOLDBERG, D. W.; ALMOSNY, N. R. P. Bioquímica plasmática de cascavéis (*Caudisona durissa* LINNAEUS, 1758) em cativeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 12, p.2510-2514, 2010.

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

STAHL, S. J. Reptile hematology and serum chemistry. In: THE NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE, 2006, Orlando. **Proceedings of the North American Veterinary Conference, Small Animal Edition – Exotics: Reptiles and Amphibians**. Ithaca: NAVC, 2006. v. 20, p. 1673 - 1676.

THRALL, M. A.; BAKER D. C.; CAMPBELL, T. W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WAISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. 582 p.

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 sanguínea de *Bothrops alternatus* en cautividad. **Revista Española de Herpetología**, Madrid, v. 12, p. 45-48, 1998.

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

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 rattlesnakes (*Crotalus durissus terrificus*) in captivity. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, Botucatu, v. 7, n. 2, p.183-189, 2001.

UETZ, P.; HOSEK, J. (Ed.). The Reptile database. 2014. Disponível em: <<http://www.reptile-database.org>>. Acesso em: 08 dez. 2014.

VALLE, A. L.; BRITES, V. L. C. Ecologia e nomes populares de *Crotalus durissus collilineatus* (Amaral, 1926) em áreas sob efeito antrópico do Triângulo e Alto Paranaíba. Minas Gerais. **Revista Brasileira de Zoociências**, Juiz de Fora, v. 14, n. 1, 2, 3, p.71-79, 2012.

WACK, R. F.; HANSEN, E.; SMALL, M.; POPPENG, R.; BUNN, D.; JOHNSON, C. K. Hematology and plasma biochemistry values for the giant garter snake *Thamnophis gigas* and valley garter snake *Thamnophis sirtalis fitchi* in the central valley of California. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 48, n. 2, p. 307-313, 2012.

WUSTER, W.; FERGUSON, J. E.; QUIJADA-MASCAREÑAS, J. A.; POOK, C. E.; SALOMÃO, M. G.; THORPE, R. S. Tracing an invasion: landbridges, refugia, and the phylogeography of the Neotropical rattlesnake (Serpentes, Viperidae: *Crotalus durissus*). **Molecular Ecology**, Oxford, v. 14, n. 4, p. 1095-1108, 2005.

ZIERER, M.; BRANDÃO, C. A. L.; FOEGER, V.; DALEPRANE, J. M.; WAIANDT, H. R. Estudo bioquímico do sangue de *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae) mantida em cativeiro e de vida livre nos municípios de Santa Teresa e Santa Maria de Jetibá – ES. **Diálogos & Ciência: revista eletrônica da Faculdade de Tecnologia e Ciências**, Salvador, ano 6, n. 13, 2008. Disponível em: <http://dialogos.ftc.br/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=107&Itemid=15>. Acesso em: 03 jul. 2014.

ZIPPEL, K. C.; LILLYWHITE, H. B.; MLADINICH, C. R. J. New vascular system in reptiles: Anatomy and postural hemodynamics of the vertebral venous plexus in snakes. **Journal of Morphology**, New York, v. 250, n. 1, p.173-184, 2001.

ANEXO 1



Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)
Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 - Bloco A, sala 224 - Campus Santa
Mônica - Uberlândia-MG –
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131; e-mail:ceua@propp.ufu.br;
www.comissoes.propp.ufu.br

**ANÁLISE FINAL Nº 243/13 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE
ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 149/13**

Projeto Pesquisa: “Variação sazonal dos constituintes Bioquímicos plasmático de cascavéis em cativeiro na cidade de Uberlândia, MG”.

Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Antônio Vicente Mundim

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas. Ao final da pesquisa deverá encaminhar para a CEUA um relatório final.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: O CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 20 de Janeiro de 2014.

Prof. Dr. César Augusto Garcia
Coordenador da CEUA/UFU

ANEXO 2



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 42135-1	Data da Emissão: 22/11/2013 16:48	Data para Revalidação*: 22/12/2014
-----------------	-----------------------------------	------------------------------------

* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Dados do titular

Nome: Antonio Vicente Mundim	CPF: 138.726.136-34
Título do Projeto: VARIAÇÃO SAZONAL DOS CONSTITUINTES BIOQUÍMICOS PLASMÁTICOS DE CASCÁVEIS EM CATIVEIRO NA CIDADE DE UBERLÂNDIA, MG	
Nome da Instituição: Universidade Federal de Uberlândia	CNPJ: 25.648.387/0001-18

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
---	------------------------	------------------	---------------

1	Coleta de sangue de Cascavéis.	01/2014	08/2014
---	--------------------------------	---------	---------

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para Importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	1- O pesquisador fará a coleta de sangue 60 serpentes adultas, sendo 30 machos e 30 fêmeas, mantidas em cativeiro no Setor de Manutenção de Répteis do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Uberlândia, número de registro IBAMA 301263. Os animais não serão sacrificados para o desenvolvimento do estudo. O trabalho contribuirá para o conhecimento do estado de saúde, diagnóstico, prognóstico e tratamento de doenças em medicina veterinária de serpentes. 2- O manuseio dos animais deverá ser realizado sob os cuidados profissionais do referido Criadouro.
---	--

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	GRACIELE FREITAS CARDOSO	Colaboradora	008.389.611-26	4804802 DGP-CGO	Brasileira
2	Vera Lucia de Campos Brites	Colaboradora	236.115.966-04	M-131.063 SSP-MG	Brasileira
3	Danielle Souza Vieira	Colaboradora	101.144.386-41	13738870 SSP-MG	Brasileira
4	Thais Carneiro Santos Rodrigues	Colaboradora	016.100.276-55	MG 16109035 SSP-MG	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 48989365



Página 1/4