



**Universidade Federal de Uberlândia
Faculdade de Medicina Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias**

RAFAEL ROCHA DE SOUZA

Perfil hemoglobínico e bioquímico de *Trachemys scripta elegans* mantidas em cativeiro

Uberlândia-MG

2023

RAFAEL ROCHA DE SOUZA

**PERFIL HEMOGLOBÍNICO E BIOQUÍMICO DE *Trachemys scripta elegans*
MANTIDAS EM CATIVEIRO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Uberlândia, como exigência parcial para obtenção do título de doutor em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Saúde Animal

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Quagliatto Santos

Uberlândia-MG

2023

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

S729 2023	Souza, Rafael Rocha de, 1984- Perfil hemoglobínico e bioquímico de <i>Trachemys scripta</i> <i>elegans</i> mantidas em cativeiro [recurso eletrônico] / Rafael Rocha de Souza. - 2023. Orientadora: André Luiz Quagliatto Santos. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.te.2023.183 Inclui bibliografia. Inclui ilustrações. 1. Veterinária. I. Santos, André Luiz Quagliatto, 1961-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Ciências Veterinárias. III. Título. CDU: 619
--------------	--

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias

BR 050, Km 78, Campus Glória, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: (34) 2512-6811 - www.ppgcv.famev.ufu.br - mesvet@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	CIÊNCIAS VETERINÁRIAS				
Defesa de:	TESE DE DOUTORADO PPGCVET Nº 04/2023				
Data:	01 DE MARÇO DE 2023	Hora de início:	08:00	Hora de encerramento:	11:40
Matrícula do Discente:	11813VET003				
Nome do Discente:	RAFAEL ROCHA DE SOUZA				
Título do Trabalho:	PERFIL HEMOGLOBÍNICO E BIOQUÍMICO DE <i>Trachemys scripta elegans</i> MANTIDAS EM CATIVEIRO.				
Área de concentração:	SAÚDE ANIMAL				
Linha de pesquisa:	INVESTIGAÇÃO ETIOLÓGICA				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	MÉTODOS DIAGNÓSTICOS, ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS E ULTRAESTRUTURAIS EM ANIMAIS DOMÉSTICOS E SILVESTRES				

Reuniu-se por videoconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, assim composta: Drs.: Fernando Cristino Barbosa - FAMEV/UFU; Alisson de Souza Costa - HOVET/UFU; José Roberto Ferreira Alves Júnior - IFGoiano; Heloisa Castro Pereira - Pentapharm e André Luiz Quagliatto Santos - FAMEV/UFU, orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). André Luiz Quagliatto Santos, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por André Luiz Quagliatto Santos, Usuário Externo, em 01/03/2023, às 11:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Heloisa Castro Pereira, Usuário Externo, em 01/03/2023, às 12:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Alisson de Souza Costa, Usuário Externo, em 01/03/2023, às 14:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Fernando Cristino Barbosa, Professor(a) do Magistério Superior, em 01/03/2023, às 17:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por José Roberto Ferreira Alves Junior, Usuário Externo, em 02/03/2023, às 16:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 4261861 e o código CRC E6566727.

AGRADECIMENTOS

A Deus e os guias de luzes pela vida e saúde.

A você mãe, quando eu parecia não mais suportar, você me carregou no colo. O Meu único objetivo é a sua felicidade. Gratidão pela nossa capelinha!

A você pai, sempre generoso a me amparar no seu silêncio.

A minha irmã Ké, sempre prestativa nessa jornada.

Ao professor Israel Matos Batista, pelo exemplo de dedicação e comprometimento com a prestação de serviços públicos.

A Universidade Federal de Uberlândia, por me oportunizar o ambiente acadêmico gratuito e de qualidade.

A Universidade de Franca, por me receber durante a realização deste estudo, ofertando visita técnica e capacitação.

A Universidade Federal do Triângulo Mineiro, pela oportunidade de servir a sociedade e também por possibilitar a educação continuada de seus técnicos administrativos.

Aos animais deste estudo, que forneceram uma pequena amostra de sangue, mas que certamente permitirá um avanço na Medicina de Répteis.

Ao professor André Luiz Quagliatto Santos, pelo apoio e liberdade na orientação científica.

A graduanda Jéssica Santos Queiroz, pela contribuição na parte de hemoglobina e a Médica Veterinária Thaís de Almeida Moreira, na bioquímica clínica.

Ao professor Marcio Machado Costa e os técnicos administrativos, Alisson de Souza Costa, Felipe César Gonçalves e Thaís Aparecida Silva, pelo auxílio nos exames laboratoriais.

Ao professor Ednaldo Carvalho Guimarães e a técnica administrativa Lara Reis Gomes, pela presteza na parte estatística deste estudo.

Ao Biólogo Eduardo João Pereira Junior pela ilustração científica.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa concedida junto ao Programa de Demanda Social (Processo nº 88882.429147/2019-01).

A empresa Quibasa-Bioclin® pela doação dos kits reagentes de bioquímica clínica.

“Eu fiz o melhor que eu pude com o que eu sabia na época”

(Hermano)

RESUMO

A espécie *Trachemys scripta elegans*, popularmente conhecida como tartaruga-de-orelha-vermelha é de grande interesse para herpetocultores e Médicos Veterinários, por ser um animal exótico e invasor a fauna brasileira e consequentemente oferecer risco potencial para quelônios nativos e também para a saúde pública. A medicina de répteis está em constante desenvolvimento, e assim existe a demanda de estudos que se propõem a estabelecer guias de referência sobre o perfil sanguíneo destes animais saudáveis em cativeiro, o que facilita a interpretação de exames laboratoriais quando houver sinais e sintomas clínicos. O exame de hemograma e bioquímica fornecem informações precisas sobre a fisiologia e o estado de saúde do paciente, sendo a execução rápida e de baixo custo para os tutores. O objetivo deste estudo, foi avaliar a possibilidade de determinação do teor de hemoglobina, por meio do volume globular/hematócrito. Bem como, a estabilidade analítica dessa proteína intraeritrocitária, quando acondicionada em heparina sódica ou EDTA K₂, em diferentes tempos de armazenamento, sob refrigeração. Além disso, investigar a influência do sexo, sobre elementos bioquímicos e a estabilidade analítica destas dosagens, quando submetidos a diversos tempos de estocagem, sob congelamento. Contribuindo assim, para gerar dados padronizados na literatura que possam auxiliar na investigação de doenças nesta espécie, assim como em outros quelônios, em especial aqueles potencialmente em fase de extinção. Para esta finalidade, foram analisados 30 exemplares de *Trachemys scripta elegans* (15 machos e 15 fêmeas), adultos, hígidos mantidas em cativeiro. A relação hematócrito versus concentração hemoglobínica plasmática, dosada em heparina sódica, na prática, ele é pouco eficiente, não sendo possível nesta espécie, usar o hematócrito para estimar o teor de hemoglobina, que pode ser dosada em até 72 horas após coleta, quando armazenada a (4°C), em ambos os anticoagulantes. Quanto ao sexo, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para os elementos cálcio total, relação Ca:P, cálcio ionizado (Ca⁺⁺), colesterol, triglicérides e creatinina, com valores mais elevados em fêmeas e AST e LDH em machos. Verificou-se ainda, que proteínas totais, albumina, globulinas, relação A:G, fósforo, relação Ca:P, magnésio, glicose, ácido úrico, ureia, amilase, ALT, AST, LDH e CK, sofreram interferências ao longo dos tempos de armazenamento. Analitos como proteínas totais, relação A:G, cálcio total, fósforo, relação Ca:P, Ca⁺⁺, ferro, colesterol, triglicérides, ácido úrico, uréia, amilase, FAL, LDH e GGT, podem ser avaliados pouco mais de um mês após o congelamento. A glicose é estável por até 16 dias, albumina e globulinas em torno de 8 dias e AST em 4 dias, pós-congelamento. Enquanto que magnésio, amilase, ALT e CK são melhores avaliados em amostras frescas. A metodologia

realizada neste estudo está de acordo com os preceitos éticos em pesquisa com utilização animal, recomendados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e aceite do projeto de pesquisa pela Comissão de Ética na Utilização de Animais da Universidade Federal de Uberlândia (CEUA-UFU), protocolo número 031/21 e pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), número 74698-3.

Palavras-chave: analito, sangue, tartaruga.

ABSTRACT

The species *Trachemys scripta elegans*, popularly known as the red-eared turtle, is of great interest to herpetoculturists and veterinarians, as it is an exotic animal that invades the Brazilian fauna and consequently poses a potential risk to native chelonians and also to public health. Reptile medicine is in constant development, and so there is a demand for studies that propose to establish reference guides on the blood profile of these healthy animals in captivity, which facilitates the interpretation of laboratory tests when there are clinical signs and symptoms. The blood count and biochemistry exam provide accurate information about the physiology and health status of the patient, and the execution is quick and low cost for the tutors. The objective of this study was to evaluate the possibility of determining the hemoglobin content by means of the packed cell volume/hematocrit. As well as the analytical stability of this intraerythrocyte protein, when stored in sodium heparin or K₂ EDTA, at different storage times, under refrigeration. Furthermore, to investigate the influence of gender on biochemical elements and the analytical stability of these dosages, when subjected to different storage times, under freezing. Thus contributing to generate standardized data in the literature that may help in the investigation of diseases in this species, as well as in other chelonians, especially those potentially in the process of extinction. For this purpose, 30 specimens of *Trachemys scripta elegans* (15 males and 15 females), adults, healthy, kept in captivity, were analyzed. The hematocrit ratio versus plasma hemoglobin concentration, dosed in sodium heparin, in practice, it is not very efficient, it is not possible in this species, to use the hematocrit to estimate the hemoglobin content, which can be dosed within 72 hours after collection, when stored at 4°C, in both anticoagulants. As for sex, statistically significant differences were found for the elements total calcium, Ca:P ratio, ionized calcium (Ca⁺⁺), cholesterol, triglycerides and creatinine, with higher values in females and AST and LDH in males. It was also verified that total proteins, albumin, globulins, A:G ratio, phosphorus, Ca:P ratio, magnesium, glucose, uric acid, urea, amylase, ALT, AST, LDH and CK, suffered interference over time of storage. Analytes such as total protein, A:G ratio, total calcium, phosphorus, Ca:P ratio, Ca⁺⁺, iron, cholesterol, triglycerides, uric acid, urea, amylase, FAL, LDH and GGT can be evaluated a little over a month after the freeze. Glucose is stable for up to 16 days, albumin and globulins for around 8 days and AST for 4 days post-freezing. While magnesium, amylase, ALT and CK are better evaluated in fresh samples. The methodology carried out in this study is in accordance with the ethical precepts in research with animal use, recommended by the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA), and the research project was accepted

by the Committee on Ethics in the Use of Animals of the Federal University of Uberlândia (CEUA-UFU), protocol number 031/21 and by the Biodiversity Authorization and Information System (SISBIO), number 74698-3.

Keywords: analyte, blood, turtle.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1. Ilustração científica de *Trachemys scripta elegans* mantida em cativeiro no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres da Universidade Federal de Uberlândia (LAPAS - UFU)..... 24
- Figura 2. Recintos para quelônios do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres da Universidade Federal de Uberlândia (LAPAS - UFU)..... 25
- Figura 3. Coleta de sangue por venopunção do seio venoso vertebral de exemplar adulto de *Trachemys scripta elegans* cativo no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres da Universidade Federal de Uberlândia (LAPAS - UFU)..... 27

LISTA DE GRÁFICOS

CAPÍTULO II

- Gráfico 1. Dispersão das concentrações hemoglobínicas determinadas pelo método de cianometahemoglobina versus hematócrito para amostras sanguíneas de *Trachemys scripta elegans*, acondicionadas em heparina sódica..... 50
- Gráfico 2. Valores médios, mínimo e máximo, das concentrações de hemoglobina de *Trachemys scripta elegans* determinadas em amostras sanguíneas com heparina sódica, para os tempos amostrais, T0 (análise imediata), T1 (24h), T2 (48h) e T3 (72h)..... 50
- Gráfico 3. Valores médios, mínimo e máximo, das concentrações de hemoglobina de *Trachemys scripta elegans* determinadas em amostras sanguíneas com EDTA K₂, para os tempos amostrais, T0 (análise imediata), T1 (24h), T2 (48h) e T3 (72h)..... 51

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO III

- Tabela 1. Parâmetros bioquímicos avaliados com as respectivas metodologias utilizadas para análise..... 70
- Tabela 2. Valores médios e desvio padrão dos constituintes bioquímicos séricos de *Trachemys scripta elegans*, machos e fêmeas em cativeiro..... 71
- Tabela 3. Efeitos do congelamento a (-20°C) sob analitos séricos de *Trachemys scripta elegans* em diferentes momentos: T0 (análise imediata), T4 (4 dias), T8 (8 dias), T16 (16 dias), T32 (32 dias). Média e DP (desvio padrão); A/G = Relação Albumina Globulinas; Ca/P = Relação Cálcio Fósforo; ALT = Alanina aminotransferase; AST = Aspartato aminotransferase; FAL =

Fosfatase alcalina; LDH = Lactato desidrogenase; GGT = Gama-glutamil transferase; CK =
Creatina-fosfoquinase..... 72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	Adenosina Trifosfato
A:G	Albumina/Globulina
ALT	Alanino Aminotransferase
ANOVA	Análise de Variância
AST	Aspartato Aminotransferase
ATP	Trifosfato de Adenosina
BUN	Nitrogênio Ureico Sanguíneo
Ca:P	Cálcio/Fósforo
Ca ⁺⁺	Cálcio Ionizado
CEUA	Comissão de Ética na Utilização de Animais
CK	Creatina Fosquinase
Cm	Centímetro
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
FAL	Fosfatase Alcalina
FHbs	Flavohemoglobinas
GGT	Gama Glutamyltransferase
Hb	Hemoglobina
HiCN	Cianometahemoglobina
LCAT	Lecitina-Colesterol-Acil Transferase
LDH	Lactato desidrogenase
µl	Microlitro
mm	Milímetro
mg/dL	Miligramas por decilitro
mL	Mililitros
nm	Nanômetro
pH	Potencial hidrogeniônico

RDW	Amplitude de Distribuição de Glóbulos Vermelhos
RPM	Rotação Por Minuto
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
UI/L	Unidades Internacionais por Litro
VCM	Volume Corpuscular Médio

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1- Considerações gerais.....	17
1.1. Introdução.....	18
2. Fundamentação Teórica.....	19
2.1. Répteis (Classe Reptilia)	19
2.2. Testudines (Ordem: Testudinata).....	22
2.3. Tartaruga-de-orelha-vermelha.....	23
2.4. Hematologia.....	26
2.5. Bioquímica Clínica.....	29
CAPÍTULO 2 - Determinação da concentração de hemoglobina em <i>Trachemys scripta elegans</i> mantidas em cativeiro: correlação com o hematócrito e a estabilidade analítica em diferentes anticoagulantes e tempos de armazenamento.....	43
Introdução.....	45
Material e Métodos.....	45
Resultados.....	46
Discussão.....	46
Conclusões.....	47
Referências.....	48
Gráficos.....	50
CAPÍTULO 3 - Perfil bioquímico <i>Trachemys scripta elegans</i> mantidas em cativeiro: influência do sexo e a estabilidade de analitos em diferentes tempos de armazenamento.....	52
Introdução.....	54
Material e Métodos.....	54
Resultados.....	55
Discussão.....	56
Conclusões.....	63
Referências.....	64
Tabelas.....	70
ANEXOS.....	73
Autorização SISBIO.....	73
Autorização CEUA UFU.....	74
Normas de submissão – Pesquisa Veterinária Brasileira.....	75

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS. Conforme a Norma Regulamentar 002/2015 do Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Uberlândia, este capítulo foi formatado de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas NBR 6021-2015 e NBR-6023-2018.

1.1. Introdução

A espécie *Trachemys scripta elegans* (Reptilia, Testudines, Emydidae - Wied, 1839), popularmente conhecida como tartaruga-de-orelha-vermelha, configura entre as espécies que estão sendo introduzidas em dissemelhantes biomas pelo planeta. Trata-se de um quelônio de vida semiaquática, com origens na América do Norte, particularmente, Estados Unidos e México (OLIVEIRA, 2015). Porém teve mais de 52 milhões de exemplares exportados para diversos países, entre as décadas de 80 e 90, para serem criados como pets (TELECKY, 2001).

Atualmente, a manutenção da variabilidade biológica é uma das principais inquietações globais, em função de diversos fatores, como a extinção e a fragilidade de determinadas espécies. Além, da introdução de animais exóticos e a própria dispersão de microrganismos, principalmente de caráter infeccioso (SILVA et al., 2010).

Em sua maioria, a prática da comercialização de espécies silvestres ocorre na ilegalidade, e eventualmente, podem ser destinados a mercados de animais vivos, estabelecimentos de alimentação e propriedades rurais. Tal ação intensifica a proximidade entre humanos, animais domésticos e silvestres (KRUSE et al., 2004). Esse cenário tem potencial para amplificar a veiculação de agentes patogênicos, que podem acometer a espécie humana, portanto se faz necessário um aprofundamento do conhecimento a cerca da fisiopatologia de espécies exóticas e invasoras.

Em Medicina Veterinária, as análises hemato-bioquímicas são exames frequentemente utilizados no diagnóstico laboratorial de enfermidades, bem como na avaliação fisiológica e condição clínica dos animais. Embora seja crescente o número de publicações científicas a respeito de espécies silvestres e exóticas, os dados na literatura para tartarugas-de-orelha-vermelha, ainda carecem de informações, e o comum dos estudos é utilizarem grupos pequenos de animais. Ademais, existem diferenças nas metodologias empregadas em cada estudo, que pode dificultar o uso dos resultados obtidos em pesquisas comparativas.

Frequentemente o perfil bioquímico sanguíneo é empregado para avaliar o estado sanitário de répteis. Entretanto, em geral são carentes os estudos controlados que se propõe a evidenciar a relevância das alterações, nos componentes bioquímicos do sangue desses animais, em comparação com aquelas observadas em outras classes de animais. Por conseguinte, a bioquímica clínica aplicada a répteis não atingiu a mesma avaliação crítica, alcançada na medicina de mamíferos domésticos (CAMPBELL, 2015).

Segundo Storz (2019), Miyata et al. (2020), um dos principais propósitos do hemograma, é a mensuração da hemoglobina, estrutura proteica primordial que compõem as

hemácias, com a função essencial de promover a homeostase do organismo dos vertebrados, ao saturar gases do sistema respiratório e carrear para os diversos tecidos, e assim garantir a demanda metabólica.

Conforme Campbell (2006), Nardini et. al. (2013), Sykes e Klaphak (2015), os resultados de elementos sanguíneos obtidos podem ser prejudicados por numerosos fatores, como local de coleta, idade, sexo, transporte, acondicionamento da amostra, padronizações de técnicas, temperatura ambiente e estado de estresse. Diante destes desafios, (PIRES et. al., 2006) afirmam ter havido indecisões em sua tentativa de se padronizar valores e comparações entre indivíduos e grupos de espécies animais distintas.

Neste contexto, torna-se indispensável, pesquisas científicas que busquem estabelecer padrões de referência para elementos da hematologia e bioquímica sanguínea de populações específicas de animais silvestres. No tocante, as variações fisiológicas reportadas entre as diversas populações, e pelo fato de que os resultados das análises laboratoriais têm especificidades para cada metodologia e automação empregada. Faz preciso, que todo laboratório que examine espécimes de animais, possam definir seus próprios valores de normalidade para se aplicar na rotina (DUCAN et al., 1982; COLES, 1986; KANEKO, 1989; GONZALEZ et al., 2017).

Estudos sobre o perfil hemato-bioquímico com *Trachemys scripta elegans*, ainda são poucos descrito na literatura científica, portanto, por meio do diagnóstico laboratorial pode-se conhecer e estabelecer um guia de referência sobre os elementos bioquímicos séricos destes quelônios. Desta forma, objetivou-se no presente estudo, avaliar o perfil hemoglobínico e bioquímico de *Trachemys scripta elegans* mantidas em cativeiro.

2. Fundamentação Teórica

2.1. Répteis (Classe Reptilia)

Na contemporaneidade, é aceito que as origens dos répteis datam em achados fósseis longevos, compreendidos entre os períodos Carbonífero e Permiano da era Paleozóica, cerca de 250 a 310 milhões de anos atrás. Naquela altura, os répteis precursores ainda se pareciam muito aos anfíbios. Entretanto, esses indivíduos passaram a obter características evolucionárias diferentes que asseguravam expressivos benefícios junto a seus antagonistas, o que possibilitou a este vultoso grupo de animais dominarem o planeta na era Mesozóica, tida como a era reptente (GOULART, 2004).

Sobre a biologia dessa classe, convém afirmar que a palavra réptil se origina da terminologia em latim, “reptare”, ou seja, aquele capaz de rastejar. Esta é um dos atributos

centrais dos indivíduos dessa classe, que em regra, detém a cutis com ausência de glândulas mucosas e com a presença de escamas e/ou placas ósseas (MARTINS et al., 2008).

A classe dos répteis está organizada em duas subclasses: a Anapsida, que inclui os quelônios, frequentemente chamados de tartarugas, que são os indivíduos da ordem Testudines e a Diapsida, que inclui outros répteis. Os representantes da subclasse Anapsida, anatomicamente são caracterizados por um crânio primitivo sem aberturas temporais (DUTRA, 2014).

Conforme Troiano (2018), a classe Reptilia é dividida em quatro ordens, a saber, Crocodylia (crocodilos, jacarés e gaviais), Chelonia (tartarugas, cágados ou jabutis), classificados de acordo com a forma de dobrar a cabeça dentro da carapaça, que se subdividem em duas subordens: Pleurodira (quelônios que dobram a cabeça em forma lateral e Cryptodira que dobram a cabeça em forma reta). Bem como, a ordem Squamata (inclusive as subordens mais importantes), como a Ophidia, com todas as cobras e a subordem Sauria ou Lacertilia dos lagartos. Além, da ordem Sphenodontia, conhecidos como tuataras (*Sphenon punctatus* e *Sphenon guentheri*) na Nova Zelândia.

Sobre a existência desses animais no Brasil, Bérnils et al. (2012) apontam para 744 espécies de répteis registrados no país. E que neste agrupamento, estão presentes 386 cobras, 248 lagartos, 68 anfisbenas, 36 testudines e apenas 6 espécies de jacarés. Em termos de distribuição, eles estão presentes em todos os biomas brasileiro, e dada a suas características fisiológicas, que requerem fontes externas de calor para manterem a temperatura corporal constante. Logo, passaram a ser numerosos nas áreas mais quentes do território brasileiro (MARTINS et al., 2008).

Os répteis são animais ectotérmicos, portanto, não são capazes de manter a temperatura corpórea constante através de suas reações orgânicas, como ocorrem em aves e mamíferos, denominados ectotérmicos. Assim, estes indivíduos sofrem considerável influência da temperatura do meio que estão. No entanto, apesar de não serem aptos a manter um estado de homeotermia, eles procuram de diferentes maneiras terem o controle da temperatura corporal e que essa retrate a temperatura ambiental (GOULART, 2004).

Os répteis formam um grupo heterogêneo de animais, habituados a grande parte dos habitats terrestres e aquáticos, podendo ser ativos quando se apresentam em temperatura corpórea apropriada (COX; CHANSON et al., 2006). E de modo desigual aos anfíbios, que necessitam retornar as águas para reprodução, esses conseguem viver independente da mesma, inclusive alguns exemplares podem sobreviver em ambientes hostis, de regiões áridas e desérticas (O' MALLEY, 2005).

Uma das principais obtenções em termos evolutivos para répteis foi a respiração pulmonar e a capacidade de se locomover em terra firme. Da mesma forma, outro importante ganho evolutivo foi o surgimento do chamado ovo amniótico ou cleidoco, que os liberou da dependência da água durante seu desenvolvimento, uma vez que leva sua própria reserva de água e alimentos. E este tipo de ovo, é circundado por uma série de três envoltórios membranosos chamados de âmnion, córion e alantoide, que fornecem proteção contra ressecamento, enquanto que, as demais propiciam o fluxo dos nutrientes com o vitelo nutrício (TROIANO, 2018).

Sobre os aspectos reprodutivos de répteis, de uma forma geral, pode-se dizer que esses animais demonstram desempenho reprodutivo sazonal. E os herpetocultores relatam que o ciclo térmico e suas variações de temperatura ao longo do dia e da noite são fundamentais para estimular a reprodução (GOULART, 2004).

A reprodução dos répteis é sexuada e com fecundação interna, na qual seus padrões são definidos de acordo com a capacidade de pôr ovos na terra (ovíparos) ou produzir filhotes (vivíparos). De uma maneira geral, são ovíparos todos os crocodilianos, quelônios, esfenodontídeos e a grande maioria das serpentes e lagartos (TROIANO, 2018).

Grande parte dos répteis, quando em habitat natural, possui aptidão generalista na alimentação e passam a consumir uma diversidade grande de alimentos. E essa demanda depende da disponibilidade de comida no ambiente e da habilidade em capturar as presas. A nutrição é influenciada pela idade, habitat, época do ano e também territórios. O animal adulto tem ações polivalentes e oportunistas, e sua dieta tende a ser mais diversificada do que dos jovens, destes passa a ser restrito ao tamanho da presa (HERNAN-DEZ-DIVERS, 2006).

Cada vez mais, os répteis são objetos de pesquisas científicas, seja pela emergência ambiental e suas demandas conservacionistas, quanto pelo crescimento de sua criação como pets. Todavia, a expansão de sua popularidade, como animais de estimação, vem causando indagações quanto aos possíveis danos a saúde pública. Haja vista, que representam eminente fonte potencial de infecção para população humana, ao disseminar no local que coabitam agentes patogênicos e oportunistas contidos nas fezes (BRINGSOE, 2002).

2.2. Testudines (Ordem: Testudinata)

Os Testudines são répteis singulares, mas que comumente são chamados de tartarugas por populares. Estes animais possuem especificidades que os fazem ser diferenciados de outros répteis, pois possuem grande parte do corpo recoberto por uma estrutura firme, chamada de carapaça e que dentro dessa, a maioria desses indivíduos conseguem recolher o crânio e também os membros torácicos e pélvicos (BIANCO et al., 1959).

A Ordem Testudinata, com sinônimas Testudines ou ainda Chelonia é composta pelos grupos de quelônios (tartarugas, cágados e jabutis). E ocorrem na produção acadêmica deste tema, discordâncias quanto à terminologia rotineiramente usada para os variados grupos de quelônios (HICKMAN et al., 2004).

A ordem Testudinata é formada por 302 espécies divididas em duas subordens, relatadas: Cryptodira e Pleurodira. A primeira é o grupo prevalecente, sendo dividida em três superfamílias, Testudinoidea, Trionychoidea e Chelonioidea, representadas por jabutis, cágados e tartarugas marinhas respectivamente. Enquanto que a Pleurodira, o menor grupo, é habitualmente composto por cágados de pescoço lateralizado (BENYON et al., 1992).

Os grupos que compõem a ordem Testudines, diferem de outras ordens dos répteis por terem a coluna vertebral fixada à carapaça. Além disso, são os únicos répteis cuja escápula está localizada ventralmente às costelas. As tartarugas são os únicos representantes dos Anapsida ainda existentes. Tipicamente, as tartarugas são incluídas como quelônios, porém o termo preferido atualmente é testudíneos (DUTRA, 2014).

Segundo Ferri (2002), os indivíduos que compõem a ordem Testudines, são quelônios terrestres e os de água doce ou salgada. Considerada a mais anciã entre todos os vertebrados contemporâneos. Afirma ainda, que o no período Permiano, marca o primeiro vestígio fóssil desses indivíduos. No Brasil existem representantes de todas as subordens e superfamílias (GOULART, 2004).

Os Testudines conservam as cinturas da escápula e pélvica contidas num casco moldado por estruturas ósseas suturadas em formato de placas e recobertas por uma miscelânea de escudos córneos de epiderme. O casco que é fortemente conservativo e pouco sofreram mudanças nos mais de 200 milhões de anos, é formado por uma região dorsal, a carapaça, e uma região ventral, denominada plastrão, ligadas através de uma estrutura chamada de ponte (POUGH et al., 1996).

Ainda sobre a carapaça, está é formada pela união da grade costal, com vértebras e de variados componentes de ossificação dérmica, enquanto que o plastrão é constituído

preponderantemente por clavículas e interclavículas e, posteriormente, por costelas abdominais (POUGH et al., 1996).

Diversos autores, afirmam que os animais que integram a ordem Testudines, vivem muitos anos, com diversos relatos apontando para mais de 50 anos de idade em média, podendo atingir os 100 anos, principalmente quando estabelecidos como coleções em ambientes de cativeiro (SHINE et al., 1995).

Conforme Troiano (2018) os quelônios são considerados os répteis mais antigos que se tem conhecimento, e se originaram do arcabouço reptiliano comum (Cotylosaurios) há cerca de 280 milhões de anos e continuam praticamente sem modificações até o presente. Este autor, afirma ainda, que a ordem Testudinata (Chelonia) é composta por mais de 285 gêneros.

Os cágados são retratados pelos espécimes que vivem em rios, exceto algumas espécies do gênero *Malaclemys* que vivem em águas salgadas da costa atlântica dos Estados Unidos, que possuem hábitos aquáticos ou semi-aquáticos. Possuem braços e pernas de conformação palmadas com membranas interdigitais e garras afiladas, cruciais na locomoção terrestre, para acesso em troncos, escavar solos ou leito de rios á procura de alimentos e para auxílio durante a cópula (GOULART, 2004).

O Brasil é um dos países com maior diversidade de cágados, principalmente na região da Bacia Amazônica, onde algumas espécies tem função importante para a economia regional. Em determinada época, cerca de 250 milhões de ovos de cágados eram recolhidos da natureza para a extração de óleo. E estima-se que nos últimos 150 anos, mais de 5 milhões destas espécies, tenham sido capturados por ribeirinhos, para o abate (CANTARELLI, 1994).

2.3. Tartaruga-de-orelha-vermelha

Em 1792, ocorreu a primeira descrição relativa ao gênero *Trachemys* por Schoepff, se referindo ainda como *Testudo scripta*. E no ano de 1839, Wied define a subespécie *Trachemys scripta elegans*, popularmente conhecida como tartaruga-de-orelha-vermelha ou tigre-d'água-de-ouvido-vermelho (GOULART, 2004).

A espécie *Trachemys scripta elegans*, é nativa de regiões alagadas dos Estados da Flórida e do Mississippi, nos Estados Unidos (FERRONATO et al., 2009) e segundo Ernst et al. (1989), Cubas e Baptistotte (2006), a tartaruga-de-orelha-vermelha é um animal que habita ambientes de água doce, possuindo porte de médio a grande, sendo identificadas, sobretudo pelas faixas de ambos os lados temporais da cabeça, em tons de coloração avermelhado. E no

tocante ao porte desses animais, as fêmeas são maiores que os machos, que têm cauda longa e garras proeminentes nos membros anteriores, o que aperfeiçoa o momento de cópula.

Figura 1. Ilustração científica de *Trachemys scripta elegans* mantida em cativeiro no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres da Universidade Federal de Uberlândia (LAPAS - UFU).



Fonte: Junior (2023)

Nos machos de *Trachemys scripta elegans*, após a puberdade, as unhas dos membros anteriores crescem consideravelmente e constituem uma importante característica de dimorfismo sexual. E diferentemente da espécie *Trachemys dorbigny*, o macho não tem um escurecimento marcante na cor de sua carapaça, e as listras desse arcabouço são geralmente em linhas retas e quando na idade adulto, são frequentemente maiores que a espécie brasileira (GOULART, 2004).

Nos estudos de Troiano (2018), o autor afirma que os gêneros *Pseudemys*, *Chrisemys* e *Trachemys* são cágados de aptidões carnívora e herbívora e compõe a família *Emydiae*, e estas incluem espécies distribuídas ao longo da América, Europa, Ásia, e também estão presentes no continente africano.

As espécies *Trachemys scripta elegans* e *Trachemys dorbigny*, possuem muitas semelhanças e no Brasil e são frequentemente encontrados no sul e sudeste do país (CLOSE;

SEIGEL, 1997). Enquanto que Rocha (2005) afirma que essas espécies de cágados estão sendo indiscriminadamente espalhado pelo país, o que reforça a emergência de estudos que esclareçam aspectos fisiopatológicos desses animais.

De acordo com Goulart (2004), das diversas espécies de cágados encontrados no território brasileiro, o gênero *Trachemys*, mais especificamente tigre-d'água-de-ouvido-amarelo e tigre-d'água-de-ouvido-vermelho, são as de maior interesse. Esta última, exótica e invasora, porém, comumente encontrada em pet-shops e até mesmo no meio ambiente, em decorrência da introdução ilegal por leigos e até mesmo por órgãos ambientais.

Conforme relatado nos estudos de Parmenter e Avery (1990) e Rocha (2005), esses animais tem aptidão por ambientes calmos, grandes, com lamaçal e intensa luminosidade solar. Requerendo temperaturas elevadas no ambiente, por serem ectodérmicos. E possuem dieta marcadamente generalista, quando juvenis, alimentam-se de (70%) de carne e (30%) de vegetais, enquanto na fase adulta, esta porcentagem se inverte, sendo (90%) de vegetais e (10%) de carne.

Figura 2. Recintos para quelônios do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres da Universidade Federal de Uberlândia (LAPAS - UFU).



Fonte: arquivo pessoal.

Quando cativos uma das principais preocupações é o fornecimento adequado de temperatura, luz e umidade, que são cruciais para o bem-estar desses animais. Sem esse manejo, problemas de saúde são inevitáveis nos plantéis. E diversos pesquisadores afirmam ainda que lamentavelmente os efeitos dessas condições impróprias não são aparentes durante vários anos,

porém podem se tornar somente quando o animal vai a óbito. Afirmam ainda, que felizmente os modos de criação têm evoluído para padrões de excelência entre os criadores (STUART et al., 2004).

De maneira indiscriminada, esses animais quando adultos são soltos no ambiente natural, acarretando sérios desequilíbrios ecológicos, ao estabelecerem disputa por alimentos com espécies nativas e a possibilidade de predação de outros animais de pequeno porte aquático. Além disso, a questão da hibridização não pode ser negligenciada (FERRONATO et al., 2009). Estes autores, afirmam ainda que autoridades ambientais relatam a falta de informação das pessoas que tentam adquirir essas espécies, uma vez que os vendedores não relatam que estes animais crescem e podem chegar em (29 cm) de comprimento em aquários onde são mantidos.

Além dos possíveis danos ambientais supracitados, Close e Seigel (1997) afirmam que esses animais podem oferecer importantes problemas para a saúde pública do país. Uma vez que, são potenciais veiculadores na disseminação de variados agentes patogênicos aos homens e a outros animais.

2.4. Hematologia

No diagnóstico laboratorial, a análise do hemograma e da extensão sanguínea é fundamental na avaliação de répteis. E a hematologia permite detectar condições como anemia, doenças inflamatórias, carga parasitária, distúrbios hematopoiéticos e hemostáticos. Ao se avaliar as respostas hematológicas dos répteis, fatores externos devem ser considerados, como as condições ambientais, que podem intensificar ou inibir a resposta do animal as enfermidades. O hemograma é a verdadeira “foto” do paciente no exato momento da análise (CAMPBELL, 2015).

Em répteis o comportamento de resposta, tanto de glóbulos vermelhos, quanto de brancos é menos previsível do que em mamíferos e aves, que são animais ditos endotérmicos. Cujo microambiente das células parece ter maior estabilidade. De tal maneira, os valores hematológicos desta classe de animais, também podem ser afetados por inúmeros fatores intrínsecos, como a idade e o gênero (CAMPBELL, 2015). O autor afirma ainda, que variados fatores relacionados ao manuseio da amostra, como o local de punção, tipo de anticoagulante, método de contagem celular e coloração utilizada, contribuem com as discordâncias dos resultados de hemograma em répteis.

De uma forma geral, em animais a coleta de material tem início durante a contenção, principalmente em espécies exóticas que são susceptíveis, ao estresse da contenção mecânica, o que pode interferir nos valores encontrados. E diversas contradições de resultados são reportadas nos laboratórios clínicos, em função das interferências, muitas já citadas, mas certamente uma das mais relevantes para animais ectotérmicos é as variações sazonais (ALMOSNY, 2014).

Figura 3. Coleta de sangue por venopunção do seio venoso vertebral de exemplar adulto de *Trachemys scripta elegans* cativo no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres da Universidade Federal de Uberlândia (LAPAS - UFU).



Fonte: arquivo pessoal.

Conforme Frye (1986), o tamanho do animal e o volume de sangue requerido para uma determinada prova laboratorial pode influenciar na escolha do vaso sanguíneo para obtenção da amostra de sangue. É necessário se atentar, ainda, para a importância de manter a integridade do animal após a coleta, por se tratar, às vezes, de um dos poucos exemplares da espécie. Entretanto, a preferência do Médico Veterinário que faz as coletas é o principal fator a ser observado, pois erros na obtenção e no acondicionamento das amostras acarretam em desastrosos resultados dos exames.

Ao preservar o sangue total a uma temperatura de (4°C), protege-se a membrana das células, e reduz a o risco de liberação de potássio intracelular das hemácias, o que poderia levar a erros na interpretação dos resultados. Temperaturas baixas exercem um efeito protetor nas membranas, cuja consequência mais importante é a redução do metabolismo da série vermelha

e a consequente diminuição de adenosina trifosfato - ADP (ABOU-MADI et al., 2003; MITCHELL et al., 2009). Os autores citam ainda, que numa temperatura de (20°C), possivelmente continuará a respiração celular e o risco de lise.

Na maioria das espécies de répteis o anticoagulante de eleição para hematologia é a heparina sódica ou lítica. Uma vez que o uso do EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) pode causar lise de hemácias, principalmente nos quelônios. Além disso, esta substância pode levar a formação de artefatos, bem como a agregação e cremação de elementos figurados do sangue, e alterações nos níveis séricos de cálcio e de outros metais, por conta de sua ação quelante. Já a heparina, pode produzir uma capa de cor azulada nas extensões sanguíneas que dificulta a visualização das células, e também pode formar agregação de plaquetas e glóbulos brancos (SYKES; KLAPHAKE, 2015; THRALL, 2017; CAMPBELL; GRANT, 2022).

Segundo Christopher et al. (1999), na realização do hemograma de quelônios um dos desafios para os analistas clínicos é a possibilidade de contaminação da amostra por linfa. Em função da distribuição anatômica dos vasos linfáticos e dos vasos sanguíneos que é compartilhada, e desta forma pode ser coletada juntamente com o sangue total e ocasionar hemodiluição da amostra. Os autores citam ainda que entre os vasos possíveis de serem acessados, a jugular é a que detém menor risco de contaminação.

Nos compilados de Storz, Opazo e Hoffmann (2013) e Keppner et al. (2020), é percebido que conforme ocorria o desenvolvimento de organismos primitivos e inicialmente menos complexos, ditos unicelulares e anaeróbicos, a porção proteica denominada globina evoluía de sua própria atividade de desintoxicação, ao sequestrar gases e estruturas enzimáticas relacionadas ao transporte de oxigênio. No que tange a esse momento, as bactérias detinham tipos de flavohemoglobinas (FHbs), mas que em um momento de baixa disponibilidade de oxigênio no meio, essas moléculas se tornavam tóxicas para essas formas de vida, e então era fundamental se desfazer dessa estrutura, e essa função era realizada por outras proteínas.

Estes autores, afirmam ainda, que na medida em que as formas de vida se tornavam mais complexas, multicelulares e aeróbicos, a necessidade de pigmentos respiratórios, análogo á globina se fez necessário para o transporte e armazenamento de oxigênio tecidual. E que essa evolução se deu devido ao advento de organelas celulares encarregadas de geração de energia química, e do próprio oxigênio, que se antes era uma ameaça para vidas primitivas, agora se tornou um requerido catabólito, amplificador de reações metabólicas desses seres.

Os autores Grispo (2012), Waheed et al. (2016) e Lei et al. (2020) contextualizam que entre as estruturas proteicas de organismos animais, a hemoglobina (Hb), certamente é a mais estudada, principalmente no que tange, sobre sua função e conformação estrutural. E que

estudos comparativos de suas isoformas e atuações na saturação de gases sanguíneos, numa ampla variedade de espécies de animais, podem agregar ascensão no que se sabe a respeito dessa proteína.

O método de cianometahemoglobina é um dos mais tradicionais e utilizados na rotina laboratorial, para dosagem de hemoglobina. E de acordo com Ranzani-Paiva et al. (2013), na metodologia de análise dessa proteína eritrocitária, o material é diluído na solução de Drabkin, que é composta por ferrocianeto de potássio (100 mg), bicarbonato de sódio (2 mg), cianeto de potássio (50 mg) e (1 L) de água destilada. A solução lisante extrai a hemoglobina dos eritrócitos. O ferrocianeto de potássio faz a oxidação do íon ferroso do grupamento heme da hemoglobina para íon férrico, produzindo a metahemoglobina. Na sequência o cianeto de potássio converte esta última em cianometahemoglobina - HiCN (RAPPAPORT et al., 2020).

Tendo em vista que o produto formado nessa reação é um cromóforo estável, no qual a intensidade de sua cor está proporcionalmente ligada à concentração de hemoglobina, esta é dosada pela técnica de espectrofotometria no comprimento de onda de 540 nm e pareada a uma leitura padrão (KEOHANE; OTTO; WALENGA, 2020).

Na obtenção da concentração de hemoglobina de répteis, aves e peixes, a técnica de cianometahemoglobina requer modificação, sendo que após a mistura com o reagente, essa solução deve ser centrifugada a (3.500 RPM) por 5 minutos e o sobrenadante que deve ser analisado na automação (RANZANI-PAIVA et al., 2013; BROWN; TRISTAN; HEATLEY, 2020; CAMPBELL; GRANT, 2022).

O método de cianometahemoglobina tem um caráter funcional, pois demanda somente uma solução para a reação e a maioria dos derivados da hemoglobina é aferida, como a desoxi-Hb, oxi-Hb, carboxi-Hb, hemoglobina fetal e também parte da sulfemoglobina. Ademais, a lei de Lambert-Beer pode ser aplicada em uma grande faixa de absorção e visto que a (HiCN) é um composto estável, mensurações podem ser obtidas logo após ou até dias após a mistura do sangue total com o reagente (ZANDER; LANG; WOLF, 1984).

2.5. Bioquímica Clínica

O perfil bioquímico sérico é uma ferramenta imprescindível na Medicina Veterinária, pois fornece uma gama de informações, sobre o estado de saúde do animal a partir de um pequeno volume de amostra, permitindo o diagnóstico e prognóstico de enfermidades metabólicas e possibilitando uma avaliação clínica mais segura do paciente (BOWES, 1989; LUMEIJ et al., 1990; VALLE, 2008).

Para uma interpretação fidedigna dos resultados, é fundamental conhecer a especificidade e sensibilidade do método eleito para a avaliação, os intervalos de referência para a espécie em questão e deter uma relação de patologias que possam ocasionar às alterações observadas (RITCHIE et al., 1994).

Na maioria das espécies de animais, diversos fatores podem influenciar nos valores de elementos bioquímicos sanguíneos, entre eles o sexo, idade, raça, alimentação, atividade muscular, manejo, condições ambientais, fases do ciclo estral, gestação, puerpério, lactação e nível de produção leiteira. Esses dois últimos especificamente em mamíferos (LOWSETH et al., 1990; DOWNS et al., 1994).

Em Medicina Veterinária, por vezes é preciso analisar o material biológico coletado o quanto antes, para que se tenha maior probabilidade de aliviar os pacientes da dor. Porém, essa conduta enfrenta uma série de possíveis intercorrências, entre elas o acondicionamento das amostras. Que via de regra, pode variar de semanas, meses e até anos, requerendo temperaturas de refrigeração ou de congelamento, com o intuito de impedir a deterioração de analitos termolábeis (CRAY et al., 2009).

Porém, nas análises clínicas de animais, existem escassas informações sobre a estabilidade analítica de elementos bioquímicos do sangue, o que pode concorrer para uma menor otimização das amostras obtidas ou mesmo ocasionar erros pré-analíticos e induzir a imprecisões no diagnóstico laboratorial (EHSANI et al., 2008; TÓTHOVA et al., 2010).

Segundo Singh et al. (2015), a estabilidade analítica dos elementos bioquímicos sérico, é a capacidade que estas amostras possuem de assegurar suas propriedades originais em um período de tempo pré-estabelecido. E o armazenamento de amostras em temperaturas de refrigeração ou congelamento é necessário tanto na rotina hospitalar quanto em pesquisas clínicas.

A questão do armazenamento adequado de amostras biológicas, certamente é um dos principais desafios que os Médicos Veterinários enfrentam. Principalmente aqueles que atuam na Clínica Médica de Animais Silvestres, por vezes não tendo laboratórios de diagnóstico nas proximidades do atendimento. O que torna necessário, estudos que se propõem a elucidar as influências que os analitos podem sofrer ao serem acondicionados.

As provas bioquímicas em quelônios podem ser realizadas em amostras plasmáticas ou no soro. Em uma mesma quantidade de sangue total é possível obter um volume maior de plasma do que de soro (BRYANT et al., 2012). Frente a esta constatação pela adversidade em coletar expressivas quantidades de sangue em quelônios, diversos pesquisadores preferem realizar a análise bioquímica em amostras plasmáticas (KELLY et al., 2015).

Conforme Christopher et al. (1999), a obtenção dos níveis sanguíneos de proteínas totais permite avaliar casos clínicos que cursam com desidratação e também a nutrição dos animais. E as fêmeas de répteis podem desencadear hiperproteinemia na fase folicular ativa, a qual é induzida por hormônios sexuais (ALMOSNY et al., 2007). E de acordo com Campbell (2015), essa elevação dos níveis sanguíneos de proteínas totais, induzida preponderantemente por estrógeno, está relacionado ao aumento da concentração especificamente de um grupo protéico, chamado globulinas, necessárias para composição da gema do ovo.

A albumina perfaz cerca de (50%) do total de proteínas circulantes. E tem um elevado peso molecular, é produzida no fígado e contribui em 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo e compõe também uma relevante reserva protéica. Além de desempenhar funções no transporte de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina. A albumina também integra função importante na modulação do pH sanguíneo, atuando como molécula de carga negativa (GONZALEZ et al., 2006).

Estes autores citam ainda, que a concentração de albumina pode ser alterada nas doenças hepáticas, pela disponibilidade de proteínas na dieta, pelo desequilíbrio hidroeletrolítico, bem como por enfermidades que levam a perdas protéicas. Portanto, a hipoalbuminemia pode ocorrer em diversas afecções, enquanto que a hiperalbuminemia é pontualmente restrita aos casos de desidratação.

De acordo com Troiano (2018), o valor das globulinas é calculado através de subtração de albuminas das proteínas totais, enquanto que a relação albumina/globulina é obtida por divisão entre essas frações protéicas. Por conseguinte, pode se afirmar que a determinação mais segura é através do uso de eletroforese.

De acordo com Campbell (2014), assim como nos mamíferos, o paratormônio também modula endocrinamente os níveis dos minerais cálcio e fósforo em répteis, com a participação de calcitonina e vitamina D em sua forma ativa. Os valores de cálcio na grande maioria dos répteis variam de (8 a 11mg/dL) e podem oscilar entre as espécies, peculiaridades metabólicas e quanto ao sexo também, mas geralmente com valores mais elevados em fêmeas. A hipocalcemia quase sempre esta associada á nutrição, baixa disponibilidade de vitamina D, elevação dos níveis de fósforo, hipoalbuminemia ou baixa produção do paratormônio.

Segundo Gonzalez et al. (2006), grande parte do cálcio (88%) está associada aos ossos, que tem uma composição mineral de (75%) de fosfato tricálcico (hidroxiapatita), (10%) de carbonato de cálcio e os (15%) restantes contêm citrato de cálcio, pirofosfato de cálcio, carbonato de magnésio, fosfato de magnésio, fosfato dissódico, cloreto de potássio, fluoretos e traços de estrôncio, bário e chumbo. Citam ainda que, embora quase (90%) do cálcio do

organismo estejam no esqueleto como depósito na forma de fosfato de cálcio, o restante tem diversas funções vitais, encontrando-se nos fluidos corporais na forma ionizada (Ca^{++}).

O íon ferro é um elemento bioquímico inorgânico e indispensável para o metabolismo dos animais, atuando como cofator de uma série de proteínas e circula carregado pela transferrina no plasma. É absorvido no intestino e ao ser englobado nas células é sempre reciclado no processo de hemocaterese (HARWEY, 2008).

Sobre a deficiência de ferro, geralmente está associada a enfermidades que levam primariamente a perdas ou redução da síntese protéica, infestações por endoparasitas, nutrição inadequada, enterites ou sequestro em situações inflamatórias (STACY, 2011).

Em torno de (70%) do magnésio presente no organismo dos animais, estão localizados na parte mineral dos ossos. Do restante, (29%) se localizam nos tecidos moles, e (1%) nos fluidos corporais (GONZÁLEZ et al., 2006). O magnésio é um elemento importante da dieta, considerado um cátion essencialmente intracelular e atua como ativador ou catalizador de mais de 300 proteínas enzimáticas corporais, incluindo fosfatases e enzimas que envolvam trifosfato de adenosina (ATP) (ROSOL; CAPEN, 1997).

A concentração de glicose é altamente instável, e na maioria dos répteis varia de (60 a 120 mg/dL). O tempo de processamento da amostra é relevante e, se for processada depois de (4 horas), os valores começam a oscilar. A hiperglicemia é sazonal, com níveis mais elevados durante o verão do que no inverno, ademais, o estresse pós-captura eleva sua concentração, igual situação ocorre com alguns anestésicos (TROIANO, 2018).

A hipertermia tem efeito antagônico às causas citadas acima, e diminui os valores de glicose, principalmente em tartarugas e, por outro lado, aumenta em jacarés. Outra influência é o mergulho, que também causa aumento de sua concentração nesses animais, e eventualmente, o diabetes mellitus pode provocar elevação desse monossacarídeo no sangue (TROIANO, 2018).

O colesterol é essencial para os animais, sendo utilizado para a formação de membranas biológicas e para a síntese de ácidos biliares e hormônios esteroidais. As fontes de colesterol vêm da dieta e da produção endógena. Grande parte do colesterol endógeno é sintetizada nos hepatócitos e secretado, como éster de colesterol, este último é formado através da enzima lecitina-colesterol-acil transferase (LCAT), a qual transfere um ácido graxo da lecitina para a molécula de colesterol, posteriormente carregado no sangue através de lipoproteínas (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

A determinação da concentração de colesterol e dos triglicerídeos se mostra eficaz na avaliação do estado nutricional e da atividade reprodutiva de quelônios. As fêmeas geralmente

possuem níveis séricos mais elevados de ambos, devido ao momento de vitelogênese (ZAIAS et al., 2006). E os autores, Christopher et al. (1999) afirmam, que já foram elucidadas as diferenças nas concentrações desses lipídeos em função da sazonalidade.

Segundo Campbell (1996), o ácido úrico é um composto nitrogenado, oriundo do produto final da degradação de proteínas, nitrogênio não protéico e purinas em répteis terrestres. E compõem de (80 a 90%) do nitrogênio total excretado por estes indivíduos. Esse catabólito, juntamente com a ureia formam os principais produtos finais do metabolismo protéico nos répteis terrestres e aquáticos.

A mensuração do ácido úrico e da ureia pode ser utilizada para detecção de doença renal, por ser excretado pelos rins e também um indicativo da ingestão de proteínas, principalmente em quelônios terrestres (CHRISTOPHER et al., 1999; ALMOSNY et al., 2007). Sobre o local de síntese do ácido úrico, esta ocorre preponderantemente no fígado e parcialmente nos túbulos renais (CAPITELLI; CROSTA, 2013).

Nos estudos de Campbell (2015), este autor afirma ser desafiador a determinação de um perfil bioquímico sanguíneo para a doença renal de répteis, quando comparado aos mamíferos, em função das diferenças fisiológicas de seus rins. Os níveis de nitrogênio ureico sanguíneo (BUN) e de creatinina em geral são elementos de baixo valor no diagnóstico e prognóstico de injúria renal de répteis, porém, a concentração plasmática de ureia pode ser mais útil na avaliação clínica de nefropatias de répteis de hábitos aquáticos, os quais excretam preponderantemente ureia.

A creatinina é um catabólito normalmente presente na urina de mamíferos, mas na maioria dos répteis, a quantidade formada é irrelevante ($< 1\text{mg/dL}$). A concentração de creatinina no sangue em geral é julgada de pouca relevância no diagnóstico de doença renal de répteis. Em contrapartida, o teor sanguíneo de creatina deste elemento bioquímico pode ter valor de diagnóstico na detecção de doença renal em algumas espécies de répteis, mas não disponibilidade desse teste na maioria dos laboratórios clínicos veterinários (CAMPBELL, 2006).

Segundo Duncan e Prasse (1982), a amilase é uma enzima com função amilolítica, secretada em sua forma ativa, que efetua hidrólise em ligações do tipo glicosídicas, produzindo mono e dissacarídeos. Essa enzima eventualmente pode ter ação lipolítica também, e sua ação é otimizada quando em um meio de pH alcalino. E conforme, Divers (2000), assim como nos mamíferos, a amilase é uma substância pancreática, frequentemente usada no diagnóstico e prognóstico de injúrias no pâncreas de répteis.

De forma relativamente semelhante ao que acontece nas aves e nos mamíferos, às enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanino aminotransferase (ALT), também não possuem atividade plasmática apontada como órgão-específica em répteis (CAMPBELL, 2015).

No parênquima hepático, essas transaminases constituem um importante grupamento de enzimas, que desempenham funções no metabolismo de aminoácidos ao realizarem a catalise de transferência de um grupo amino de um aminoácido para um cetoácido, haja vista, que no citoplasma dos hepatócitos é abundante os teores de (ALT) (KRAMER; HOFFMANN, 1997).

Nos processos agudos de injúria da membrana plasmática de células hepáticas, sejam por toxinas ou outras causas que cursem com hipóxia, podem levar a um derramamento da (ALT) na circulação sanguínea. Enquanto que nas doenças hepáticas crônicas, principalmente em estágios avançados de fibrose, o valor da (ALT) sérica pode estar normal ou discretamente elevado (MEYER, 1992).

A fosfatase alcalina (FAL) é composta por diversas isoenzimas originadas em diferentes tecidos, com predomínio das frações óssea e hepática. No entanto, a função que desempenha no organismo animal continua pouco esclarecida, parece estar implicada com o transporte de lipídios nos enterócitos e nos processos de calcificação óssea. Os animais jovens, particularmente aqueles em fase de crescimento, apresentam concentrações séricas dessa enzima mais elevada do que os adultos, em função do intenso desenvolvimento da matriz óssea (MACHADO, 2010).

Assim como em outros animais, a fosfatase alcalina, não é considerada específica para nenhum órgão em répteis, e elevações de suas concentrações séricas, podem estar associadas, com atividade osteoblástica intensa e também em doenças endócrinas, como é o caso do hipoparatiroidismo (Fernandez et al., 2007; Campbell, 2014).

Da mesma forma que as enzimas supracitadas, a lactato desidrogenase (LDH) não possui especificidade para o fígado, mas também parece ter intensa atividade no parênquima hepático de répteis. Embora escassos estudos tenham avaliado o perfil bioquímico sanguíneo de répteis, com o objetivo de avaliar o funcionamento do fígado, o aumento das concentrações séricas dessas enzimas, podem sugerir doenças hepatocelulares (CAMPBELL, 2015).

No entanto, considera-se que existe atividade de (LDH) em diversos tecidos dessa classe de animais. E assim, aumento dos níveis sanguíneos dessa enzima (>1000 UI/L) pode estar associado a lesões hepáticas ou de musculatura estriada cardíaca e/ou esquelética (BOYD, 1988).

A enzima gama glutamiltransferase (GGT) esta presente em membranas e associada a vários tipos de tecidos dos animais. Porém, na maioria das vezes, as concentrações séricas elevadas, ocorrem pelo aumento da síntese e consequente excreção pelos canaliculos biliares, que se estreitam quando lesionados (MEYER; HARVEY, 1992).

Diante disso, é notório que apesar de ser pouco órgão-específicas, dada suas presenças nos mais variados tecidos dos animais, as enzimas ALT, AST e LDH, quando avaliadas em conjunto e associadas aos sinais e sintomas clínicos do paciente, podem estabelecer como hipótese provável a injúria tecidual de um determinado órgão, como exemplo, o fígado. Enquanto que a GGT pode indicar dano hepático de graviade maior, inclusive com derramento dessa enzima por mitocôndrias (TROIANO, 2018).

A enzima creatina fosquinase (CK) é apontada como órgão-específica do tecido muscular estriado esquelético e cardíaco, portanto pode ser dosada na tentativa de se diagnosticar lesões em musculatura, como as que podem ocorrer no estresse de conteção física durane a coleta de sangue ou mesmo na fuga e captura de animais. A elevação dos níveis séricos de CK, podem então, servir de parâmetro para se avaliar a qualidade de coleta das amostras. E já foi descrito que variações nas concentrações dessa enzima, ocorrem em relação as estações do ano e também quanto ao gênero (ZAIAS et al., 2006; CHAFFIN, et al., 2008).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOU-MADI, N.; JACOBSON E. R. Effects of Blood Processing Techniques on Sodium and Potassium Values: A Comparison Between Aldabra Tortoises (*Geochelone gigantea*) and Burmese Mountain Tortoises (*Manouria emys*). **Veterinary Clinical Pathology**, 2003. v. 32, n. 2.
<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2003.tb00315.x>
- ALMOSNY, N. R. P. Patologia Clínica em Vertebrados Ectotérmicos. Tratado de Animais Selvagens. In: CUBAS Z. S.; SILVA, J.; RAMOS, C.; CATÃO-DIAS, J. L. (ed). São Paulo: Roca Ltda, 2014. cap. 84.
- 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: Roca LTDA, 2007. cap. 59, p. 939-966.
- BENYON, P. H.; LAWTON, M. P.C.; COOPER, J. E. **Manual of Reptiles**. Iowa State University. Ames IA, p. 22, 1992.
- BÉRNILS, R.S.; COSTA, H.C. **Brazilian Reptiles: List of Species**, São Paulo: Sociedade Brasileira de Herpetologia, 2012.
- BIANCO, E. R. et.al. **Tratado Elemental de Zoologia**. México: Editorial Científica Latino Americana Lários, 1959.
- BOWES, V. A.; JULIAN, R. J.; STIRTZINGER, T. Comparison of serum biochemical profiles of male broilers with female broilers and White Leghorn chickens. **Canadian Journal of Veterinary Research**. v. 53, n. 1, p. 7 -11, 1989.
- BOYD J. W. Serum enzymes in the diagnosis of diseases in man and animals, **Journal Comparative Pathology**, v. 98, p. 381-404, 1988.
[https://doi.org/10.1016/0021-9975\(88\)90088-6](https://doi.org/10.1016/0021-9975(88)90088-6)
- BRINGSOE, H. Review of the status of *Trachemys scripta elegans* em European Union. In: ADRADOS L.C.; BRIGGS L. **Study of application of EU wildlife trade regulations in relation to species which from an ecological threat to EU fauna and flora, with case studies of American bullfrog (Roma catesbelana)**. Study report to the European Commission Unpubl, 2002.
- BROWN, J.; TRISTAN, T.; HEATLEY, J. J. Snakes. In: HEATLEY, J. J.; RUSSELL, K. E. **Exotic Animal Laboratory Diagnosis**. Hoboken: New Jersey: Wiley-Blackwell, 2020. cap. 17, p. 291–318.
- BRYANT, G. L.; FLEMING, P. A.; TWOMEY, L.; WARREN, K. A. Factors affecting hematology and plasma biochemistry in the Southwest Carpet Python (*Morelia spilota imbricata*). **Journal of Wildlife Diseases**. v. 48, n. 2, p. 282-294, 2012.
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-48.2.282>
- CAMPBELL, T. W. Clinical Pathology of Reptiles. In: MADER, D. R. **Reptile Medicine and Surgery**. Missouri: SAUNDERS Elsevier, 2006. cap. 30, p. 490-532.
- CAMPBELL, T. W. Clinical Pathology. In: MADER, D. R.; DIVERS, S. J. **Current Therapy in Reptile Medicine and Surgery**. St. Louis: Elsevier; 2014. p. 70–92. Disponível

at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781455708932000089>. Acesso em: 5 de out. 2023.

CAMPBELL, T. W. Hematologia dos répteis. In: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária** (ed.), São Paulo: Editora Roca., 2015. cap. 20, p. 239. ISBN 978-0-8138-1027-0

CAMPBELL, T. W.; GRANT, K. R. **Exotic Animal Hematology and Cytology**, Hoboken: Wiley-Blackwell, 2022. 720 p.

CAMPBELL, T. W.; THRALL, M. A.; WEISER G.; ALLISON R. W.; Bioquímica Clínica dos Répteis. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária (ed), São Paulo: Editora Roca, 2015 p. 525. ISBN 978-0-8138-1027-0.

CAMPBELL, T.W. Clinical Pathology of Reptiles. In: MADER D. R. (ed.), **Reptile Medicine and Surgery**, St. Louis: Saunders Elsevier, 2006. p, 453-70.

CAMPBELL, T.W. Clinical pathology. In: MADER, D.R. (ed.). **Reptile Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders, 1996. cap. 22, p. 248-257.

CANTARELLI, V.H. Conservação e manejo de quelônios da Amazônia. In: NASCIMENTO, B.N; BERNARDES, A. T.; COTTA, G. A. (ed.) **Herpetologia no Brasil**. V Encontro Brasileiro de Héretólogos - Pontificia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1994. p. 25-34.

CAPITELLI, R.; CROSTA, L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**. Texas, v. 16, n. 1, p. 71-120, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.cvex.2012.10.002>

CARLOS, E. S.; GOULART. **Herpetologia, Herpetocultura e Medicina de Répteis** (ed.). Rio de Janeiro: L.F. Livros de Veterinária, 2004. ISBN 85-89137-04-X.

CHAFFIN, K.; NORTON, T. M.; GILARDI, K.; POPPENG, R.; JENSEN, J. B.; MOLER, P.; CRAY, C.; DIERENFELD, E. S.; CHEN, T.; OLIVA, M.; ORIGGI, F. C.; GIBBS, S.; MAZZARO, L.; MAZETCHAFFIN, J. K. Health assessment of free-ranging alligator snapping turtles (*Macrochelys temminckii*) in Georgia and Florida. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v. 44, n. 3, p. 670-686, 2008.

<https://doi.org/10.7589/0090-3558-44.3.670>

CHRISTOPHER, M. M.; BERRY, K. H.; WALLIS, I. R.; NAGY, K. A.; HENEN, B. T.; PETERSON, C. C. Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging desert tortoises in the Mojave desert. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v. 35, n. 2, p. 212-238, 1999.

<https://doi.org/10.7589/0090-3558-35.2.212>

CLOSE, L. M.; SEIGEL, R. A. A Differences in body size among population of red-eared sliders (*Trachemys scripta elegans*) subjected to different levels of harvesting. **Chelonian Conservation and Biology**, Lunenburg, v. 2, n. 4, p. 563-566, 1997.

COLES, E.H. Thyroid function. In: **Veterinary Clinical Pathology** (ed.) Philadelphia: W. B. Saunders, 1986. cap. 12, p.226-230.

- COX, N.; CHANSON, J.; STUART, S. The status and distribution of reptiles and amphibians of the Mediterranean Basin. **The World Conservation Union**, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. v. 42, 2006.
- CRAY, C.; RODRIGUEZ, M.; ZAIAS, J.; ALTAIAN, N. H. Effects of storage temperature and time on clinical biochemical parameters from rat serum. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, p. 202–204, 2009.
- CUBAS, P. H.; BAPTISTOTTE, C. Chelonia (tartaruga, cágado, jabuti). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Ed.). **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**, São Paulo: Roca, 2006. p. 86-117.
- DIVERS, S. Reptilian renal and reproductive disease diagnosis. In: FUDGE, A.M. (ed). **Laboratory Medicine: avian and exotic pets**, Philadelphia: W. B. Saunders, 2000. cap. 25, p. 217-222.
- DOWNS, L. G.; ZANI, V.; WILLS, J. M.; CRISPIN, S. M.; BOLTON, C. H.; Changes in plasma liprotein during the on oestrus cycle of the bitch. **Research in the Veterinary Science**, 1994. v. 56, n. 1, p. 82-88.
[https://doi.org/10.1016/0034-5288\(94\)90200-3](https://doi.org/10.1016/0034-5288(94)90200-3)
- DUNCAN, J. R.; PRASSE, K.W. **Patologia Clínica Veterinária**, Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1982. p.165-170.
- DUTRA, G. H. P.; Testudines (Tigre d'água, Cágado e Jabuti). **Tratado de Animais Selvagens** (ed.), São Paulo: Editora Roca, 2014. cap. 16 p. 488.
- EHSANI A.; AFSHARI A.; BAHADORI H.; MOHRI M.; SEIFI H. A. Serum constituent analyses in dairy cows: effects of duration and temperature of the storage of clotted blood. **Veterinary Science**. p. 473-475, 2008.
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.02.004>
- ERNST, H.; BARBOUR, W. Turtles of the world. **Swthsonian Institution**, Washington and London, p. 204 – 205. 1989.
- FERNANDEZ, N.J.; KIDNEY, B. A. Alkaline phosphatase: Beyond the liver. **Veterinary Clinical Pathology**. 2007. p. 223–33.
- FERRONATO, B. O.; MARQUES, T. S.; GUARDIA, I.; LONGO, A. L.; PIÑA, C. I.; BERTOLUCI, J.; VERDADE, L.M. The turtle *Trachemys scripta elegans* (Testudines, Emydidae) as an invasive species in a polluted stream of southeastern Brazil. **Herpetological Bulletin**, London, v. 109, p. 29-34, 2009.
- FRYE, F. L. Hematology of captive reptiles. In: FOWLER, M. E. (ed.) **Zoo & wild animal medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986. p. 181-184.
- GONZÁLEZ, F.H.; SILVA, S.C. **Introdução a Bioquímica Clínica Veterinária** (ed.), Porto Alegre: Editora UFRGS, 2006. p. 535.
- GONZÁLEZ, F.H.; SILVA, S.C. **Introdução a Bioquímica Clínica Veterinária** (ed.), Porto Alegre: Editora UFRGS, 2006. p. 357.

GOULART, C. E. S. **Herpetologia, Herpetocultura e Medicina de Répteis**. Rio de Janeiro: LF Livros de Veterinária, 2004. 330 p. Troiano, J. C. **Doenças dos Répteis**. São Paulo: MedVet, 2018. 284 p.

GRISPO, M. T.; NATARAJAN, C.; PROJECTO-GARCIA, J.; MORIYAMA, H.; WEBER, R. E.; STORZ, J. F. Gene Duplication and the Evolution of Hemoglobin Isoform Differentiation in Birds. **Journal of Biological Chemistry**, 2012, v. 287, n. 45, p. 37647–37658.

<https://doi.org/10.1074/jbc.m112.375600>

HARWEY, J. W. Iron metabolism and its disorders. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals** (ed). Burlington: Academic Press, 2008. p. 259–86.

HERNANDEZ–DIVERS, S. M. Common malnutrition issues of birds and reptiles. In: **PROCEEDINGS OF THE NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE**, Orlando, 2006. Disponível em:

<http://www.ivis.org/proceedings/navc/2006/SAE/649.asp?LA=1>

HICKMAN, C.P.; ROBERTS, L.; LARSON, A. *Princípios integrados de zoologia* (ed.), Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2004. p. 872.

KANEKO, J.J. In: **Clinical Biochemistry of Domestic Animals** (ed.) San Diego: Academic Press, 1989. p. 878-901.

KELLY, T. R.; MCNEIL, J. B.; AVENS, L.; HALL, A. G.; GOCHE, L. R.; HOHN, A. A.; GODFREY, M. H.; MIHNOVETS, A. N.; CLUSE, W.M.; HARMS, C. A. Clinical Pathology Reference Intervals for an In-Water Population of Juvenile Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*) in Core Sound. **Plos One**, North Carolina, 2015. v. 10, n. 3, p. 1-13.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115739>

KEOHANE, E. M.; OTTO, C. N.; WALENGA, J. M. **Rodak's Hematology Clinical Principles and Applications** (ed). Saint Louis: Elsevier, 2020. ISBN 10.1016/c2013-0-19483-4.

KEPPNER, A.; MARIC, D.; CORREIA, M.; KOAY, T. W.; ORLANDO, I. M. C.; VINOGRADOV, S. N.; HOOGEWIJS, D. Lessons from the post-genomic era: Globin diversity beyond oxygen binding and transport. **Redox Biology**, v. 37, p. 101-687, 2020.

<https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101687>

KRUSE, H.; KIRKEMO, A. M.; HANDELAND, K. Wildlife as source of zoonotic infections. **Emerging Infectious Diseases**, p. 2067-2072, 2004.

LEI, Y.; YANG, L.; JIANG, H.; CHEN, J.; SUN, N.; LV, W.; HE, S. Recent genome duplications facilitate the phenotypic diversity of Hb repertoire in the Cyprinidae. **Science China Life Sciences**, v. 64, n. 7, p. 1149–1164, 2020.

<https://doi.org/10.1007/s11427-020-1809-0>

LOWSETH, L.A; GILLET, N.A; GERLACH, R.F.; MUGGENBURG, B.A.; The effects of aging on hematology and serum chemistry values in the Beagle dog. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 19, n. 1, p. 13-19, 1990.

<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.1990.tb00535.x>

LUMEIJ, J.T.; OVERDUIN, L.M. Avian Plasma chemistry references values in psittaciformes. **Avian Pathology**, v. 19, p. 235 - 244, 1990.

<https://doi.org/10.1080/03079459008418676>

MACHADO, A.L.C. **Níveis de fósforo disponível na dieta de poedeiras**. 2010. 11 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MARTINS, M.; MOLINA, F.B. **Panorama geral dos répteis ameaçados do Brasil. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**, 2008.

MCARTHUR, S.; BARROWS, M. General care of Chelonians. In: MCARTHUR, S.; WILKINSON R.; MEYER J. **Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles**, Oxford: Blackwell Publishing Ltd. Cap. 5. ISBN 1-4051-0889-4.

MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. **Veterinary Laboratory Medicine, Interpretation e Diagnosis**. Philadelphia: Saunders, 1992, p. 350.

MITCHELL, M.; HERNANDEZ-DIVERS, S. Methods in herpetological forensic work - clinical techniques. **Applied Herpetology**, v. 6, n. 1, p. 3–28, 2009.

MIYATA, M.; GILLEMANS, N.; HOCKMAN, D.; DEMMERS, J. A. A.; CHENG, J.-F.; HOU, J.; SALMINEN, M.; FISHER, C. A.; TAYLOR, S.; GIBBONS, R. J.; GANIS, J. J.; ZON, L. I.; GROSVELD, F.; MULUGETA, E.; SAUKA-SPENGLER, T.; HIGGS, D. R.; PHILIPSEN, S. An evolutionarily ancient mechanism for regulation of hemoglobin expression in vertebrate red cells. **Blood**, v. 136, n. 3, p. 269–278, 2020.

<https://doi.org/10.1182/blood.2020004826>

NARDINI, G.; LEOPARDI, S.; BIELLI, M. Clinical Hematology in Reptilian Species. **Vet Clin North Am - Exot Anim Pract**, 2013. p.1–30.

<https://doi.org/10.1016/j.cvex.2012.09.001>

O' MALLEY, B. **Clinical Anatomy and Physiology of Exotic Species: Structure and Function Mammals, Birds, Reptiles and Amphibians**. Edinburgh: Elsevier Saunders, 2005. p. 269.

OLIVEIRA, G. D. **Estimativa populacional e estratégia de manejo de *Trachemys scripta elegans* (Chelonia) no parque ecológico de uso múltiplo Olhos D'água, Brasília – DF**. 2015. 36 f. Monografia (graduação em Ciências Ambientais) - Universidade de Brasília – UNB.

PARMENTER, R.R.; AVERY, H.W. The feeding ecology of slider turtle. In: GIBBONS, J.W. **Life History and Ecology of the Slider Turtle**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1990. p. 257-265.

PIRES, T. T.; ROSTAN, G.; GUIMARÃES, J. E. Hemograma e determinação da proteína plasmática total de tartarugas marinhas da espécie *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758), criadas em cativeiro, Praia do Forte, Município de Mata de São João – Bahia. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 3, p. 348-353, 2006.

POUGH, F. H.; HEISER, J. B.; MCFARLAN, W. N. **Vertebrate Life**. New York, Prentice Hall, 1996. p. 752.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; DE PÁDUA, S. B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M. I. **Métodos para Análise Hematológica em Peixes** (ed). Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá, 2013.

RAPPAPORT, A. I.; KARAKOCHUK, C. D.; HESS, S. Y.; RALPH D WHITEHEAD, J.; NAMASTE, S. M. L.; DARY, O.; PARKER, M. E.; NEUFELD, L. M.; LARSON, L. M.; NEWTON, S.; WEGMULLER, R.; MOORTHY, D. Variability in haemoglobin concentration by measurement tool and blood source: an analysis from seven countries.

Journal of Clinical Pathology, 2020.

<https://doi.org/10.1136/jclinpath-2020-206717>

ROCHA, D.F.N.B. **Biologia termal das tartarugas *Trachemys dorbigni* (Duméril & Bibron, 1835) e a *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839) dos lagos de Porto Alegre, RS, Brasil (Testudines, Emididae)**. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

ROSOL, T.J.; CAPEN, C.C. Calcium-Regulating hormones and diseases of abdominal mineral (calcium, phosphorus, magnésium) metabolism. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals** (ed). London: Academic Press, 1997. p. 619-702.

<https://doi.org/10.1136/vr.102.2.29>

SHINE, R.; IVERSON, J.B. Patterns of survival, growth and maturation in turtles. **Oikos**, Buenos Aires, 1995. v.72. p. 343-348.

<https://doi.org/10.2307/3546119>

SILVA, A. M.; MARVULO, M. F. V.; MOTA, R. A.; SILVA, J. C. R. A importância da ordem Ciconiiformes na cadeia epidemiológica de *Salmonella spp.* para a saúde pública e a conservação da diversidade biológica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 7, p. 573-580, 2010.

<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000700011>

SINGH, M; PANDYA, R; CHANDRA, S; SHARMA, S.K. Stability of Clinical Chemistry and Hematological Analytes in Preserved Plasma and Blood Obtained from Wistar Rats.

Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science, v. 41, p.1-6, 2015.

<https://doi.org/10.23675/sjlas.v41i0.329>

STACY, N.I.; ALLEMAN, AR; SAYLER, K. A. Diagnostic Hematology of Reptiles. **Clin Lab Med**, v. 31, p. 87–108, 2011.

<https://doi.org/10.1016/j.cll.2010.10.006>

STORZ, J. F. **Hemoglobin Insights into Protein Structure, Function, and Evolution** (ed). Oxford: Oxford University Press, 2019.

STORZ, J. F.; OPAZO, J. C.; HOFFMANN, F. G. Gene duplication, genome duplication, and the functional diversification of vertebrate globins. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 66, n. 2, p. 469–478, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.07.013>

SYKES, J. M; KLAPHAKE, E. Reptile Hematology. **Clin Lab Med**, v.3, p. 661–80, 2015.

<https://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2015.05.014>

TELECKY, T. M. United States import and export of live turtles and tortoises. **Turtle and Tortoise Newsletter**, v. 4, p. 8-13, 2001.

THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária** (ed). São Paulo: Roca, 2017.

TÓTHOVA, C.; NAGY, O.; SEIDEL, H.; KOVÁČ, G. The Effect of Storage on the Protein Electrophoretic Pattern in Bovine Serum. **Iranian Journal of Veterinary Science and Technology**, v.2, n.2, p.77–84, 2010.

<https://doi.org/10.22067/veterinary.v2i2.8367>

TROIANO, J. C. **Doenças dos Répteis**, São Paulo: Editora MedVet, 2018. p. 284. ISBN: 978-85-62451-51-5.

VALLEI, S.F.; ALLGAYER, M.C.; PEREIRA, R.A.; BARCELLOS, L.J.G.; HLAVAC, N.R.C.; FRANÇA, R.T.; LOCATELLI, M.L. Parâmetros de bioquímica sérica de machos, fêmeas e filhotes de Araras canindé (*Ara ararauna*) saudáveis mantidas em cativeiro comercial. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 38, n. 3, p. 711-716, 2008.

<https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000300018>

WAHEED, H.; FRIEDMAN, H.; MOIN, S. F.; ZARINA, S.; AHMED, A. The Primary Structure of β I-Chain of Hemoglobin from Snake Sindhi Krait (*Bungarus sindanus sindanus*). **The Protein Journal**, v. 35, n. 3, p. 193–201, 2016.

<https://doi.org/10.1007/s10930-016-9661-2>

ZAIAS, J.; NORTON, T.; FICKEL, A.; SPRATT, J.; ALTMAN, N. H.; CRAY, C. Biochemical and hematologic values for 18 clinically healthy radiated tortoises (*Geochelone radiata*) on St Catherine's Island, Georgia. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 35, n. 3, p. 321-325.

<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00139.x>

ZANDER, R.; LANG, W.; WOLF, H. Uwe. Alkaline haematin D-575, a new tool for the determination of haemoglobin as an alternative to the cyanhaemoglobin method. I. description of the method. **Clinica Chimica Acta**, v. 136, n. 1, p. 83-93, 1984.

[https://doi.org/10.1016/0009-8981\(84\)90250-X](https://doi.org/10.1016/0009-8981(84)90250-X)

CAPÍTULO 2 - Determinação da concentração de hemoglobina em *Trachemys scripta elegans* mantidas em cativeiro: correlação com o hematócrito e a estabilidade analítica em diferentes anticoagulantes e tempos de armazenamento. Artigo redigido conforme normas da revista Pesquisa Veterinária Brasileira.

Capítulo 2

Determinação da concentração de hemoglobina em *Trachemys scripta elegans* mantidas em cativeiro: correlação com o hematócrito e a estabilidade analítica em diferentes anticoagulantes e tempos de armazenamento

ABSTRACT.- [Determination of hemoglobin concentration in *Trachemys scripta elegans* kept in captivity: by respiratory route with hematocrit and analytical stability in different anticoagulants and storage times]. Teaching and research laboratory in wild animals (LAPAS).

The present study aimed to investigate whether hemoglobin concentration in healthy patients can be estimated by the packed cell volume/hematocrit (VG), when dosed in sodium heparin, by the traditional methodology of cyanmethemoglobin, considered the gold standard for reptiles. In addition, to verify the analytical stability of this intraerythrocyte protein, when subjected to different anticoagulants and storage times. For this purpose, 30 specimens (15 males and 15 females), adults, healthy red-eared turtles (*Trachemys scripta elegans*) kept in captivity were analyzed. The hematocrit ratio versus plasma hemoglobin concentration, dosed in sodium heparin, in practice, it is not very efficient, it is not possible in this species, to use the hematocrit to estimate the hemoglobin content, which can be dosed within 72 hours after collection, when stored at (4°C), in both anticoagulants.

INDEX TERMS: plasmatic, reptile, temperature.

RESUMO.- [Determinação da concentração de hemoglobina em *Trachemys scripta elegans* mantidas em cativeiro: correlação com o hematócrito e a estabilidade analítica em diferentes anticoagulantes e tempos de armazenamento]. Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres (LAPAS). O presente estudo, objetivou investigar se a concentração de hemoglobina em pacientes hígidos pode ser estimada pelo volume globular/hematócrito (VG), quando dosada em heparina sódica, pela metodologia tradicional de cianometahemoglobina, considerada padrão ouro para répteis. Além, de verificar a estabilidade analítica dessa proteína intraeritrocitária, quando submetida a diferentes anticoagulantes e tempos de armazenamento. Para esta finalidade, foram analisados 30 exemplares (15 machos e 15 fêmeas), adultos, hígidos de tartarugas-de-orelha-vermelha (*Trachemys scripta elegans*) mantidas em cativeiro. A relação hematócrito versus concentração hemoglobínica plasmática, dosada em heparina sódica, na prática, ele é pouco eficiente, não sendo possível nesta espécie, usar o hematócrito para estimar o teor de hemoglobina, que pode ser dosada em até 72 horas após coleta, quando armazenada a (4°C), em ambos os anticoagulantes.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: plasmática, réptil, temperatura.

INTRODUÇÃO

A espécie *Trachemys scripta elegans* popularmente conhecida como tartaruga-de-orelha-vermelha ou tartaruga-tigre-d'água-americana, filogeneticamente pertence a (Reptilia, Testudines, Emydidae – Wied, 1839) (Ernst & Barbour 1989). A proibição de comercializar esta espécie no Brasil data de meados da década de 60, mas apesar de serem nativas de regiões ao sul dos Estados Unidos e do norte mexicano, acabaram sendo introduzidas no Brasil em função do tráfico internacional de animais. Sendo possível a compra de exemplares clandestinos em feiras livres, casas agropecuárias e petshops (Ferronato et al. 2009).

Progressivamente, as pesquisas acerca da hemato-bioquímica de répteis se fazem necessárias, por se tratarem de relevantes ferramentas de apoio ao entendimento da fisiologia e também do diagnóstico laboratorial de enfermidades que acometem esses animais. Além disso, partes significativas dos parâmetros hematopoiéticos são obtidas em situações de homeostase e/ou condições patológicas. A aplicabilidade da hematologia em pesquisa animal é bem aceita, apontada como procedimento de rotina em laboratórios de diagnóstico (Ranzani-Paiva & Silva-Souza 2004). A avaliação do hemograma e da extensão sanguínea compõe a análise laboratorial de répteis, sendo requerido, para se diagnosticar condições como anemia, doenças inflamatórias, parasitemias, distúrbios hematopoiéticos e disfunções hemostáticas (Campbell 2015).

A principal composição proteica das hemácias é a hemoglobina, sendo primordial na avaliação do eritrograma, dada a sua capacidade de saturação de gases e a consequente distribuição destes pelos tecidos, com o propósito de prover as demandas metabólicas do organismo animal (Miyata et al. 2020). A determinação da concentração de hemoglobina, subsidia outros índices hematimétricos, como o VCM (Volume Corpuscular Médio) largamente utilizado e o RDW (amplitude de distribuição de glóbulos vermelhos), que são preponderantes no diagnóstico e caracterização de alterações hematológicas, particularmente nos diversos tipos de anemia (Grotto 2009).

Apesar de ser fácil a realização, o método da cianometahemoglobina é potencialmente tóxico aos manipuladores e ao meio ambiente. A determinação da concentração de hemoglobina, pode ser obtida, através de técnicas manuais que fazem uso de espectrofotometria, bem como por aparelhos hematológicos, dotados de automação (Mohapatra, Bhatia & Parida 2018).

Na rotina de laboratórios clínicos, a metodologia habitualmente utilizada para dosagem da hemoglobina é o de cianometahemoglobina, que consiste na oxidação do íon ferroso da hemoglobina, oxi-hemoglobina e carboxihemoglobina pelo elemento ferrocianeto, tendo como produto desta reação a metahemoglobina. A hemoglobina oxidada, associa-se com o cianeto de potássio e leva a formação da cianometahemoglobina que pode ser dosada por colorimetria (Magno et al. 2017). Frente aos desafios e riscos de se trabalhar com a técnica tradicional de cianometahemoglobina, para obtenção da concentração de hemoglobina, os laboratórios de diagnóstico humano e de espécimes animais, convencionaram que a concentração de hemoglobina em pacientes hígidos é equivalente a cerca de um terço do volume globular (VG) (Sutton & Sellon 2013, Turkson & Ganyo 2015).

Diversas condições, intrínsecas e extrínsecas, podem problematizar a padronização de valores de referência para animais silvestres, podendo ser citado, o fator idade, sexo, estações do ano, habitat, disponibilidade de alimento e dieta fornecida (Gottdenker & Jacobson 1995, Anderson et al. 1997, Sykes & Klaphake 2008). Da mesma forma, a influência do tempo e da temperatura de armazenamento das amostras coletadas, parece carecer de informações na literatura de répteis. Segundo Brown, Tristan e Heatley (2020) em serpentes, para obtenção de resultados fidedignos, estima-se que as amostras devem ser avaliadas em até (24h) e acondicionadas sob refrigeração de (4°C). De acordo com Goulart (2004), a hematologia nos répteis pode elucidar relevantes diferenças morfofuncionais entre esta classe de animais e os mamíferos. Estas alterações são oriundas da expressiva distinção filogenética que distingue estes dois grandes grupos de animais. Apesar de existirem diferenças, a finalidade do sistema hematopoiético acaba sendo o mesmo nos dois grupos. Embora guardem funções espelhadas, a compreensão da diversidade estrutural e dos mecanismos funcionais é indispensável, para que os Médicos Veterinários, possam interpor intervenções adequadas, sempre que for exigido atendimento à saúde desses animais. Diante disso, este estudo objetivou verificar se é possível estimar o teor de hemoglobina através do hematócrito, bem como o impacto da fase pré-analítica na avaliação quantitativa da concentração dessa proteína, particularmente o efeito de diferentes tempos de estocagem a (4°C), em heparina sódica ou EDTA K₂, após coleta em *Trachemys scripta elegans*.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do estudo e contextualização. No mês de fevereiro de 2022, foram coletadas amostras de 30 exemplares de tartarugas-de-orelhas-vermelhas (*Trachemys scripta elegans*), sendo 15 machos e 15 fêmeas, adultos e hígidos, cativos no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres da

Universidade Federal de Uberlândia (LAPAS-UFU), oriundas de resgates e apreensões realizadas pela Polícia Militar Ambiental de Minas Gerais ou de doações por civis. Durante a coleta, os animais encontravam-se alojados em tanques de alvenaria, com solário e local sombreado, densidade de ocupação de (10 animais/4m²), com fornecimento de água clorada *ad libitum*, verduras, frutas, legumes e ração comercial para peixes, composta por (28%) de proteína bruta e frequência de fornecimento, de acordo com a temperatura ambiente do dia. A temperatura média no mês de fevereiro foi (23,2°C) com mínima de (19,6°C) e máxima de (27,6°C) e umidade relativa do ar (77%) Climate-date.org (2022).

Coleta das amostras e processamento. As amostras foram obtidas nos recintos onde os animais se encontravam, sendo contidos manualmente, para coleta de aproximadamente (1ml) de sangue venoso total, em seringas descartáveis de (5 ml) com agulha hipodérmica (22G) da (BD Plastipak®), após prévia antisepsia do local puncionado com álcool (70%) e seco com algodão. De cada indivíduo, foi realizada a coleta de material por venopunção do seio venoso vertebral, conforme Dutra (2014). O volume de sangue venoso foi alíquotado, sendo (0,5ml) em microtubos, contendo como aditivo anticoagulante, a heparina sódica (Labor Import®) e (0,5ml) em ácido etilenodiamino tetra-acético dipotássico (EDTA K₂ - Labor Import®). Na sequência procedeu-se a mensuração do hematócrito das amostras contendo heparina sódica, por meio de tubos capilares de vidro, de 75 mm de comprimento por 1 mm de diâmetro (Cralplast®), que foram preenchidos com sangue total até $\frac{3}{4}$ de sua capacidade, vedados em uma das extremidades, por meio de aquecimento com chama de mini maçarico e centrifugados por 5 minutos, em uma velocidade de 10.000 rotações por minuto (RPM). Por meio de cartão de hematócrito (Hc), foi possível quantificar o volume globular. Para a dosagem da hemoglobina pelo método de Cianometahemoglobina (HbC), adicionou-se 10µl de sangue total, previamente homogeneizado, em 2,5 ml de solução de Drabkin (Exodo Científica®), baseado em Machado et. al (2021). A mistura resultante, foi centrifugada por 5 minutos, na velocidade de 3.500 RPM (RPM) em centrífuga sorológica 32/15 3.5 (Inbras®). Para o preenchimento da microplaca de microtitulação, 300 µl da solução de Drabkin foi colocada no primeiro poço, como branco, e o mesmo volume do sobrenadante da mistura centrifugada anteriormente (sangue + reagente) foi colocado nos poços posteriores. Todas as amostras e o branco, foram colocadas em duplicata e a absorbância foi lida a 540 nm no Leitor de placas multi-modo EnSpire™2300 (Perkin Elmer Inc.). Essas etapas foram desenvolvidas, para amostras acondicionadas em EDTA K₂ e em heparina sódica. Para avaliar a influência do tempo de armazenamento a (4°C) na mensuração da concentração de hemoglobina, pelo método de cianometahemoglobina, em ambos os anticoagulantes, foram efetuadas as análises nos seguintes tempos: T0 (análise imediata), T1 (24h), T2 (48h) e T3 (72h), sendo uma amostra para cada tempo.

Análise estatística. Foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados. Todos os parâmetros demonstraram distribuição normal, portanto, os resultados foram apresentados sob fórmula de regressão linear e como médias, respectivamente. Para comparação entre as médias do parâmetro hematológico (teor de hemoglobina), de acordo com os tempos (24, 48 e 72 horas) após a coleta, foi utilizada a análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey. Em todas as análises, o nível de significância foi estabelecido em p-valor (0,05).

RESULTADOS

Na análise dos resultados, quando relacionado as concentrações de hemoglobina plasmática com o hematócrito, de amostras acondicionadas em heparina sódica, verificou-se uma relação linear positiva e significativa ($p=0,0038$) entre essas variáveis, a qual foi representada por $Hbc = 0,1650 \times Hc + 4,151$, com coeficiente de determinação de $r^2 = 0,2622$ (Gráfico 1). Por meio do coeficiente de determinação, foi possível afirmar que apenas (26,22 %) da variação da concentração de hemoglobina plasmática de *Trachemys scripta elegans* é explicada pelo hematócrito. De acordo com as médias das concentrações de hemoglobina plasmática em heparina sódica (gráfico 2) ou EDTA K₂ (gráfico 3), dosadas em tempos amostrais diferentes, pode-se perceber que não houve diferenças estatísticas significativas, ($p=0,5468$) e ($p=0,1179$), respectivamente, à concentração de hemoglobina. As médias dos tempos, quando dosada em heparina sódica foram: T0 (7,40 g/dL $\pm 1,86$), T1 (6,58 g/dL $\pm 2,45$), T2 (7,23 g/dL $\pm 1,94$) e T3 (6,88 g/dL $\pm 2,14$) e em EDTA K₂: T0 (7,18 g/dL $\pm 1,61$), T1 (8,50 g/dL $\pm 3,75$), T2 (7,37 g/dL $\pm 2,12$), T3 (8,33 g/dL $\pm 2,32$).

DISCUSSÃO

Diante dos resultados, que se propuseram a correlacionar as concentrações de hemoglobina plasmática com o hematócrito, de amostras de sangue de *Trachemys scripta elegans*, armazenadas em microtubos contendo heparina sódica. É possível inferir que a equação de regressão linear foi positiva e significativa devido ao elevado número de pares avaliados. Porém com o valor de r^2 bem abaixo, do ponto

de vista prático, ele é pouco eficiente, com (74%) de não explicação na relação em questão, desta forma, não é possível na rotina clínica/laboratorial, usar a variável X para estimar os resultados Y. E este resultado, contraria a hipótese de uso do valor do hematócrito para estimar os teores de hemoglobina, conforme mencionado por Sutton & Sellon (2013), Turkson & Ganyo (2015) em estudos com equinos e bovinos, respectivamente. Os resultados desta correlação, pouco se assemelham também ao reportado por Queiroz (2022) num estudo com jararaca-do-norte (*Bothrops atrox*) mantidas em cativeiro, que observou 87,81% para esta hipótese. Velguth et. al (2010) propuseram a fórmula $Hb = 0,30 \times Hc + 0,46$ ($r^2 = 0,83$) para aves das ordens Anseriformes, Columbiformes, Falconiformes, Galiformes, Passeriformes, Psittaciformes, Esfenisciformes e Strigiformes. E para aves flamings, estes autores, estabeleceram a fórmula $Hb = 0,217 \times Hc + 6,692$ ($r^2 = 0,793$). Portanto com (83%) e (79%) dos teores de hemoglobina, respectivamente, sendo explicada pelo hematócrito. Enquanto que Turkson e Ganyo (2015) estabeleceram uma relação linear para bovinos, com a seguinte expressão matemática: $HbC = 0,2762 \times HC + 3,1105$, com coeficiente de determinação $r^2 = 0,5504$. Que assim, como os valores supracitados, são superiores ao obtido nesta coleção de *Trachemys scripta elegans*.

De acordo com Horne & Findisen (1977), na hematologia de répteis, os anticoagulantes comumente utilizados na rotina laboratorial, são a heparina de sódio, lítio e amônia, EDTA dissódico, dipotássico ou tripotássico, além do citrato de sódio ou oxalato. E mesmo com as limitações existentes, em ambos os aditivos, o EDTA ou a heparina de lítio podem ser utilizados para a análise hematológica de tartarugas e tigres d'água. Afirmam ainda, que o EDTA pode levar a lise de hemácias in vitro, enquanto que a heparina pode gerar aglutinação de trombócitos e leucócitos, além de prejudicar a coloração dos esfregaços sanguíneos. A heparina de lítio é o aditivo de eleição na realização de hemogramas de quelônios, em função da hemólise ocasionada pelo EDTA (Muro et al. 1998).

Conforme os resultados obtidos neste plantel de *Trachemys scripta elegans*, comparativamente com a análise imediata, em ambos os anticoagulantes, pode-se perceber que se assemelham ao parâmetro de hemoglobina, reportado por Gradela et al. (2017), em um estudo comparativo de *Trachemys scripta elegans* (7,85 g/dL $\pm$ 2,20) e *Trachemys dorbignyi* (7,57 g/dL $\pm$ 2,40) e também por Jenkins-Perez (2012) e Medeiros et al. (2012). Enquanto que Brites (2002), num estudo, com *cágado-de-barbicha* (*Phrynosoma geoffroanus*), em áreas fortemente antropizadas do Cerrado, relata a possibilidade de influência do gênero e do bioma, em que se localizam os animais, como fator de influência nas concentrações plasmáticas de hemoglobina, com valores preponderantemente mais elevados nas fêmeas, em função de terem uma condição corporal mais robusta que os machos. Estas hipóteses, não foram confirmadas por esta pesquisa, por não serem o objeto deste estudo.

Ao analisar a influência do tempo de estocagem e da temperatura de refrigeração a (4° C) sob amostras sanguíneas acondicionadas em aditivo anticoagulante, pode-se concluir que não houve diferenças estatísticas significativas nos teores de hemoglobina ($p=0,5468$), sendo T0 (7,40 g/dL $\pm$ 1,86), T1 (6,58 g/dL $\pm$ 2,45), T2 (7,23 g/dL $\pm$ 1,94) e T3 (6,88 g/dL $\pm$ 2,14), em heparina sódica, e ($p=0,1179$), T0 (7,18 g/dL $\pm$ 1,61), T1 (8,50 g/dL $\pm$ 3,75), T2 (7,37 g/dL $\pm$ 2,12), T3 (8,33 g/dL $\pm$ 2,32), para EDTA K₂. Estes resultados concordam com os achados de Queiroz (2022), que em metodologia semelhante, relata não haver diferenças nas concentrações de hemoglobina de (*Bothrops atrox*), quando a amostra é estocada por até (72h), em temperatura de (4° C). Porém, os resultados de Queiroz (2022) e os do presente estudo, discordam dos resultados sobre serpentes, propostos por Brown et al. (2020), que afirmaram ser o tempo de até 24h de estocagem o ideal para acondicionamento e dosagem fidedigna de hemoglobina. E também dos compilados sobre répteis de Abou-Madi & Jacobson (2003), Mitchell & Hernandez-Divers (2009), que relatam ser 12h, o tempo máximo de estocagem do sangue total, ainda em condições de se obter concentrações de hemoglobina que retratem a condição hematológica do animal.

CONCLUSÕES

Neste grupo de *Trachemys scripta elegans* não foi possível estimar os teores de hemoglobina por meio da mensuração do hematócrito. Além disso, essa proteína intraeritrocitária pode ser dosada por até 72h de acondicionamento a (4°C) em ambos os anticoagulantes testados, e ainda assim, obter resultados semelhantes ao da amostra fresca.

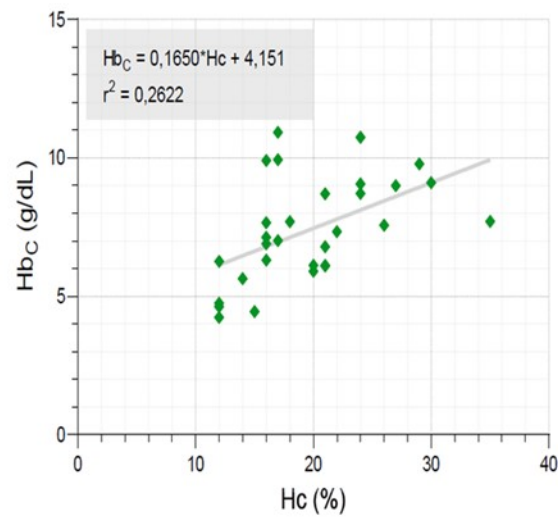
Conflitos de interesses.- Os autores declaram não ter conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- Abou-Madi N. & Jacobson E. R. 2003. Effects of blood processing techniques on sodium and potassium values: a comparison between Aldabra tortoises (*Geochelone gigantea*) and Burmese mountain tortoises (*Manouria emys*). *Vet. Clin. Pathol.* 32(2):61–66. <<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2003.tb00315.x>>
- Anderson NL, Wack RF, Hatcher R. 1997. Hematology and clinical chemistry reference ranges for clinically normal, captive new guinea snapping turtle (*Eseya novaeguineae*) and the effects of temperature, sex, and sample type. *J Zoo Wildl Med.* 28(4):394–403. PMID: 9523632
- Brites V.L.C. 2002. Hematologia, bioquímica do sangue, parasitologia, microbiologia, algas epizootias e histopatologia de *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) (*Testudinata, Chelidae*), expostos a diferentes influências antrópicas no Rio Uberabinha, Minas Gerais. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 196p.
- Brown J., Tristan T., Heatley JJ. Snakes. 2020, p. 291–318. In: Heatley J.J. & Russell K.E (Eds), *Exotic Animal Laboratory Diagnosis*. 1st ed. Wiley-Blackwell, Hoboken.
- Campbell T.W. 2015, Hematologia dos Répteis. p. 239. In: Thrall M.A., Weiser G, Allison R.W & Campbell TW. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 2nd ed. Roca, São Paulo.
- Ernst H. & Barbour W. 1989. *Turtles of the world*. Smithsonian Institution. Washington and London. 313 p.
- Ferronato B.O., Marques T.S., Guardia I., Longo A.L., Piña C.I., Bertoluci J. & Verdade L.M. 2009. The turtle *Trachemys scripta elegans* (*Testudines, Emydidae*) as an invasive species in a polluted stream of southeastern Brazil. *Herpetological Bulletin*, 109: 29.
- Gottdenker N.L. & Jacobson E.R. 1995. Effect of venipuncture sites on hematologic and clinical biochemical values in desert tortoises (*Gopherus agassizii*). *Am. J. Vet. Res.* 56(1):19-21.
- Goulart C.E.S. 2004. *Herpetologia, Herpetocultura e Medicina de Répteis*. 1ª ed. L.F. Livros de Veterinária, ISBN 85-Rio de Janeiro. 89137-04-X.
- Gradela A., Souza V.N., Queiroz M.M., Constantino A.C., Bandeira C.G.C., Faria M.D., Milanelo L., Franco V. S. & Corrêa F.M. 2017. Biometria corporal e parâmetros hematológicos de *Trachemys scripta elegans* e *Trachemys dorbignyi* (*Testudines: Emydidae*) criadas em cativeiro em Petrolina. *Pesq. Vet. Bras.* 37(1):83-90. <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000100014>>
- Grotto HZW. 2009. Blood cell analysis: the importance for biopsy interpretation. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 31(3):178-182. <<https://dx.doi.org/10.1590/S1516-84842009005000045>>
- Horne F. & Findeisen C. 1977. Aspects of fasting metabolism in the desert tortoise *Gopherus berlandieri*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B. Comp. Bioch.* 58(1): 21-26. <[https://doi.org/10.1016/0305-0491\(77\)90120-1](https://doi.org/10.1016/0305-0491(77)90120-1)>
- Jenkins-Perez J. 2012. Hematologic evaluation of reptiles: a diagnostic mainstay. *Vet. Tech.* 8 p.
- Machado S S., Blatt T.L., Neto C.C.B., Watanabe A.L., Nascimento I.A. & Gaggini T.S. 2021. Hematologia e desempenho zootécnico do Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) cultivado em bioflocos e aquaponia. *Braz. J. Develop.*, 7(7): 66555–66571. <<https://dx.doi.org/10.34117/bjdv7n7-095>>
- Magno J. A., Miguita K. & Oshiro M. 2017. Métodos alternativos para avaliar a concentração de Hemoglobina livre no plasma. *Bol. do Inst. Adolfo Lutz.* 1–3. Available at: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1048869>. Accessed on: 11 Oct. 2022.
- Medeiros N.C., Locatelli-Dittrich R., Schmidt E.M.S., Alvares A.A.A., Patricio L.L., Lange R.R. & Souza R.A.M. 2012. Efeito do sítio de venopunção nos parâmetros hematológicos em tigre-d'água-americano, *Trachemys scripta elegans*. *Pesq. Vet. Brasil.* 32:37-40. <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012001300008>>
- Mitchell M. & Hernandez-Divers S. 2009. Methods in herpetological forensic work — clinical techniques. *App. Herpetol.* 6(1):3–28. <<https://doi.org/10.1163/157075408X386141>>
- Miyata M., Gillemans N., Hockman D., Demmers J.A.A., Cheng J.F., Hou J., Salminen M., Fisher C.A., Taylor S., Gibbons R.J., Ganis J.J., Zon L.L., Grosveld F., Mulugeta E., Sauka-Spengler T., Higgs D.R. & Philipsen S. 2020. An evolutionarily ancient mechanism for regulation of hemoglobin expression in vertebrate red cells. *Blood* 136(3):269–278. <<https://dx.doi.org/10.1182/blood.2020004826>>

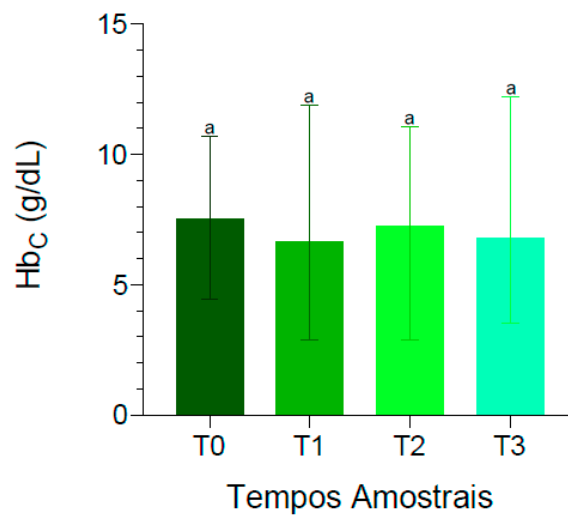
- Mohapatra D., Bhatia V. & Parida S. 2018. Diagnostic dilemma in catching anaemia early. Indian J. of Comm. Fam. Med. 4 (1):69 <<https://dx.doi.org/10.4103/2395-2113.251354>>
- Muro J., Cuenca R., Pastor J. Vinas L. & Lavin S. 1988. Effects of lithium heparin and tripotassium EDTA on hematologic values of Hermman's Tortoises (*Testudohermanni*). J. Zoo and Wildlife Med. 29(1): 40-44.
- Queiroz J.S. 2022. Comparação de métodos de determinação da concentração de hemoglobina e sua estabilidade analítica em três tempos em *Bothrops atrox* (Linnaeus, 1758) (*Ophidia viperidae*) mantidas em cativeiro Uberlândia. 58p.
- Ranzani-Paiva M.J.T. & Silva-Souza A. 2004. Hematologia de peixes brasileiros, p 89-120. In: Ranzani-Paiva M.J.T., Takemoto R.M., Lizama M.A.P. (Eds). Sanidade de Organismos Aquáticos. São Paulo.
- Sutton D.G.M. & Sellon D.C. 2013. Haematopoietic and immune systems, p. 195–210. In: Mair T., Love S., Schumacher J., Smith R.K.W. & Frazer G. Equine Medicine, Surgery and Reproduction - E-Book. [S. l.]: Saunders Ltd. Filadélfia.
- Sykes JM, Klaphake E. Reptile hematology. 2008. Veterinary Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract. 11(3):481–500. <<https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.005> PMID: 18675730>
- Turkson P.K. & Ganyo E.Y. 2015. Relationship between haemoglobin concentration and packed cell volume in cattle blood samples. Onderstepoort J. Vet. Res. 82(1):2. <<https://doi.org/10.4102/ojvr.v82i1.863>>
- Velguth K.E., Payton M.E. & Hoover J.P. 2010. Relationship of Hemoglobin Concentration to Packed Cell Volume in Avian Blood Samples. J. Avian Med. Surg. 24(2):115–121. <<https://doi.org/DOI10.1647/2008-042.1>>

Gráfico 1. Dispersão das concentrações hemoglobínicas determinadas pelo método de cianometahemoglobina versus hematócrito para amostras sanguíneas de *Trachemys scripta elegans*, acondicionadas em heparina sódica.



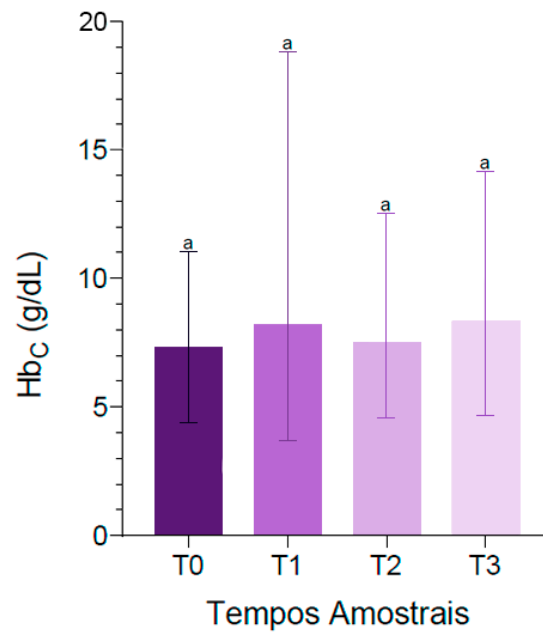
*Médias sinalizadas com letras distintas possuem diferença estatística pelo Teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

Gráfico 2. Valores médios, mínimo e máximo, das concentrações de hemoglobina de *Trachemys scripta elegans* determinadas em amostras sanguíneas com heparina sódica, para os tempos amostrais, T0 (análise imediata), T1 (24h), T2 (48h) e T3 (72h).



*Médias sinalizadas com letras distintas possuem diferença estatística pelo Teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

Gráfico 3. Valores médios, mínimo e máximo, das concentrações de hemoglobina de *Trachemys scripta elegans* determinadas em amostras sanguíneas com EDTA K2, para os tempos amostrais, T0 (análise imediata), T1 (24h), T2 (48h) e T3 (72h).



*Médias sinalizadas com letras distintas possuem diferença estatística pelo Teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

CAPÍTULO 3 - Perfil bioquímico de *Trachemys scripta elegans* mantidas em cativeiro: influência do sexo e a estabilidade de analitos em diferentes tempos de armazenamento. Artigo redigido conforme normas da revista Pesquisa Veterinária Brasileira.

Capítulo 3

Perfil bioquímico de *Trachemys scripta elegans* mantidas em cativeiro: influência do sexo e a estabilidade de analitos em diferentes tempos de armazenamento

ABSTRACT.- [Biochemical profile of *Trachemys scripta elegans* kept in captivity: influence of sex and stability of analytes at different storage times.] Teaching and research laboratory in wild animals (LAPAS).

For the evaluation of serum biochemical parameters in red-eared tortoises -red-ears (*Trachemys scripta elegans*), regarding sex and analytical stability, blood samples from 30 animals were analyzed, 15 males and 15 females, adults, healthy and captive in enclosures of the Laboratory of Teaching and Research in Wild Animals of the Federal University of Uberlândia (LAPAS-UFU). According to sex (immediate analysis), they were divided into two groups, males and females, and for the evaluation of analytical stability, the group was considered, without distinction. The serum obtained was packaged in small aliquots for different times: T0 (immediate analysis), T4, T8, T16 and T32 days, respectively, at (-20°C). For all animals, analyzes of total proteins, albumin, globulins, A:G ratio, total calcium, phosphorus, Ca:P ratio, ionized calcium, iron, magnesium, glucose, cholesterol, triglycerides, uric acid, urea, creatinine, amylase, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), gamma glutamyltransferase (GGT) and creatine phosphokinase (CK). As for sex, statistically significant differences were found for the elements total calcium, Ca:P ratio, ionized calcium (Ca⁺⁺), cholesterol, triglycerides and creatinine, with higher values in females and AST and LDH in males. It was also verified that total proteins, albumin, globulins, A:G ratio, phosphorus, Ca:P ratio, magnesium, glucose, uric acid, urea, amylase, ALT, AST, LDH and CK, suffered interference over time of storage. Analytes such as total proteins, A:G ratio, total calcium, phosphorus, Ca:P ratio, Ca⁺⁺, iron, cholesterol, triglycerides, uric acid, urea, amylase, FAL, LDH and GGT, can be evaluated in just over one month after freezing. Glucose is stable for up to 16 days, albumin and globulins around 8 days and AST at 4 days, post-freezing. While magnesium, amylase, ALT and CK are better evaluated in fresh samples.

INDEX TERMS: freezing, serum, turtle.

RESUMO.- [Perfil bioquímico de *Trachemys scripta elegans* mantidas em cativeiro: influência do sexo e a estabilidade de analitos em diferentes tempos de armazenamento.] Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres (LAPAS). Para a avaliação dos parâmetros bioquímicos de tartarugas-de-orelhas-vermelhas (*Trachemys scripta elegans*), quanto ao sexo e a estabilidade analítica, foram utilizadas amostras sanguíneas de 30 animais, sendo 15 machos e 15 fêmeas, adultos, hígidos e cativos em recintos do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres da Universidade Federal de Uberlândia (LAPAS-UFU). De acordo com o sexo (análise imediata), foram divididos em dois grupos, machos e fêmeas e para a avaliação da estabilidade analítica, considerou-se o grupo, sem distinção. O soro obtido foi acondicionado em pequenas alíquotas para diferentes tempos: T0 (análise imediata), T4, T8, T16 e T32 dias, respectivamente, a (-20°C). Para todos os animais, foram realizadas as análises de proteínas totais, albumina, globulinas, relação A:G, cálcio total, fósforo, relação Ca:P, cálcio ionizado, ferro, magnésio, glicose, colesterol, triglicérides, ácido úrico, uréia, creatinina, amilase, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAL), lactato desidrogenase (LDH), gama glutamiltransferase (GGT) e creatina fosfoquinase (CK). Quanto ao sexo, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para os elementos cálcio total, relação Ca:P, cálcio ionizado (Ca⁺⁺), colesterol, triglicérides e creatinina, com valores mais elevados em fêmeas e AST e LDH em machos. Verificou-se ainda, que proteínas totais, albumina, globulinas, relação A:G, fósforo, relação Ca:P, magnésio, glicose, ácido úrico, ureia, amilase, ALT, AST, LDH e CK, sofreram interferências ao longo dos tempos de armazenamento. Analitos como proteínas totais, relação A:G, cálcio total, fósforo, relação Ca:P, Ca⁺⁺, ferro, colesterol, triglicérides, ácido úrico, uréia, amilase, FAL, LDH e GGT, podem ser avaliados pouco mais de um mês após o congelamento. A glicose é estável por até 16 dias, albumina e globulinas em torno de 8 dias e AST em 4 dias, pós-congelamento. Enquanto que magnésio, amilase, ALT e CK são melhores avaliados em amostras frescas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: congelamento, soro, tartatuga.

INTRODUÇÃO

As tartarugas de água doce são quelônios que detêm uma antiga história de desenvolvimento filogenético, sendo relevantes em termos ecológicos e habitam diferentes ecossistemas aquáticos (Bour 2008). A tartaruga-de-orelha-vermelha é uma subespécie semiaquática e nativa com distribuição ao norte do continente americano, preponderantemente em áreas que compreendem o leste dos Estados Unidos até o nordeste do México (Ernst & Barbour 1989). Apesar de serem consideradas exóticas e invasoras para outros territórios, alguns estudos tem demonstrado o estabelecimento destes indivíduos em países como o Brasil (Ferronato et al. 2009). Uma ampla variedade de quelônios é ameaçada em todo o planeta a partir da prática de introdução de espécies consideradas invasoras (Buhlmann et al. 2002). Esta espécie tem sido largamente distribuída no país em função do comércio ilegal e fiscalização frágil e assim ocupa áreas no Bioma de Cerrado, onde é considerada exótica e invasora (Connor, 1992).

Características fisiológicas e comportamentais da espécie *Trachemys scripta elegans*, potencializam sua capacidade invasora e predatória no ambiente, dispondo de ampla margem de adaptação em diferentes climas, bem como sua aptidão eclética para o consumo alimentar. Desta forma, constitui risco de agravo à fauna em que se localizam, com a possibilidade de intensificar o processo de extinção de quelônios nativos, em função da competitividade por alimentos e habitat e até mesmo por danos no material genético ocasionados pelo fator hibridização (Fonseca 2001). A fisiopatologia de diversas espécies animais pode ser avaliada a partir da dosagem de elementos bioquímicos séricos (Hawkins et al. 2006), porém os répteis não apresentam estabilidade na composição bioquímica corporal, sendo expressiva a variabilidade ao longo dos diferentes estágios de vida, habitat e manejo, podendo refletir no perfil bioquímico sérico desses indivíduos (Santos 1997). O conhecimento acerca dos exames laboratoriais de répteis ainda é pouco descrito na literatura, em sua maioria, são informações mínimas, para se estabelecer parâmetros de referência, bem como diagnósticos e prognósticos (Santos et al. 2011). Mesmo com as limitações de dados validados, grande parte dos exames bioquímicos disponíveis para mamíferos, também são utilizados na clínica de répteis, com interpretação semelhante, porém considerando-se possíveis particularidades fisiológicas de cada animal (Campbell 2006).

Certamente um dos maiores desafios daqueles que atuam em medicina de animais silvestres é a manipulação e destinação de amostras biológicas coletadas, por vezes sem recurso laboratorial a campo. E fatores críticos durante a fase pré-analítica como: método de coleta, temperatura e tempo de acondicionamento, podem alterar a estabilidade analítica de elementos bioquímicos séricos e eventualmente induzir a erros de diagnóstico (Stockham & Scott 2011).

O objetivo deste estudo foi determinar as variações dos constituintes bioquímicos séricos de tartarugas-de-orelhas-vermelhas, por sexo e frente ao congelamento em diferentes tempos de armazenamento e assim, contribuir com o padrão bioquímico sérico desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do estudo e contextualização. No mês de fevereiro de 2022, foram coletadas amostras de sangue de 30 exemplares de tartarugas-de-orelhas-vermelhas (*Trachemys scripta elegans*), sendo 15 machos e 15 fêmeas, adultos e hígidos, pertencentes ao acervo do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres da Universidade Federal de Uberlândia (LAPAS-UFU), oriundas de resgates e apreensões realizadas pela Polícia Militar Ambiental de Minas Gerais ou de doações por civis. Durante a coleta, os animais encontravam-se alojados em tanques de alvenaria, com solário e local sombreado, densidade de ocupação de (10 animais/4m²), com fornecimento de água clorada *ad libitum*, verduras, frutas, legumes e ração comercial para peixes, composta por (28%) de proteína bruta e frequência de fornecimento, de acordo com a temperatura ambiente do dia. A temperatura média no mês de fevereiro foi (23,2°C) com mínima de (19,6°C) e máxima de (27,6°C) e umidade relativa do ar (77%) Climate-date.org (2022). As amostras foram obtidas nos recintos onde os animais se encontravam, sendo contidos manualmente, para coleta de aproximadamente (3ml) de sangue venoso, utilizando seringas descartáveis de (5 ml) com agulha hipodérmica (22G - BD Plastipak®) após prévia antisepsia do local puncionado com álcool (70%) e seco com algodão. Foi realizada a coleta de material por venopunção do seio venoso vertebral, conforme Dutra (2014).

Processamento e análise das amostras. Após a coleta, as amostras foram identificadas e imediatamente transferidas para tubos siliconados sem anticoagulante, contendo gel separador (BD Vacutainer®) e armazenadas em caixa isotérmica contendo gelo artificial reciclável até o momento da centrifugação (720G por 5 minutos), realizada em até (1 hora) após coleta e formação do coágulo. O soro obtido de cada animal estava livre de hemólise e lipemia e foi separado em (5 alíquotas) em microtubos do tipo eppendorf®. A primeira alíquota foi analisada imediatamente e utilizada para a análise de influência do sexo e obtenção de valores basais (T0) e as demais, envoltas em papel alumínio e acondicionadas em

temperatura de (-20°C) em freezer frost-free conforme Camargo et al. (2020). Todas as amostras passaram por descongelamento de 30 minutos antes do processamento dos diferentes tempos (T4, T8, T16 e T32 dias) respectivamente de congelamento, em analisador automático multicanal (Chemwell® - Awareness Technology Inc., Palm City, EUA) utilizando kits comerciais da (Bioclin®). O analisador foi previamente calibrado em temperatura de (37°C), com calibrador H e aferido com soro controle universal qualitol H, ambos produzido pela (Bioclin®). Os analitos e metodologias utilizadas estão listados na Tabela 1.

Análise estatística. Os dados foram apresentados como média $\pm$ DP. Para o sexo, foi adotado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. O teste de t-Student foi adotado para amostras independentes, enquanto que para a avaliação de estabilidade analítica, adotou-se o teste de Kruskal-Wallis. Adotou-se nível de significância p-valor (0,05), empregando para análise o software IBM SPSS®.

RESULTADOS

Animais e dados epidemiológicos.

A espécie *Trachemys scripta elegans*, também conhecida popularmente como tartaruga-de-orelha-vermelha, é nativa de regiões de águas de estados norte-americanos. Embora proibida, a comercialização desta espécie ocorre de forma clandestina no Brasil. Quando tartarugas de uma fauna externa são liberadas no meio ambiente não nativo o risco do desequilíbrio ambiental é preocupante, já que isso pode acarretar na alteração do ecossistema em função da competição por presas com outros animais nativos e como esta espécie tem grande resistência aos desafios naturais o impacto na natureza ainda é maior. O conhecimento acerca do diagnóstico e tratamento de tartarugas exóticas e em processo de extinção é uma emergência ambiental e obter modelos animais como padrões para diagnóstico laboratorial se faz necessário. Neste estudo, verificou-se que alguns dos constituintes bioquímicos séricos analisados (Tabela 1.), sofreram influência do sexo e interferências ao longo dos tempos de armazenamento. É possível inferir a influência do sexo nas concentrações séricas dos elementos cálcio total, relação Ca:P, cálcio ionizado, colesterol, triglicérides e creatinina, com valores preponderantemente mais elevados nas fêmeas e as enzimas AST e LDH nos machos (Tabela 2). Em relação a estabilidade analítica, os valores das médias, desvio padrão e resultados da análise estatística de elementos nos soros sanguíneos de tartarugas-de-orelhas-vermelhas (*Trachemys scripta elegans*), no dia da coleta/análise imediata (tempo zero - T0) e após o congelamento a (-20°C) por 4 dias (tempo - T4), 8 dias (tempo - T8), 16 dias (tempo - T16) e T32 (tempo - T32), respectivamente, estão demonstrados na tabela 3.

Análise estatística. O teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov demonstrou p-valor $> 0,05$ em todos os elementos bioquímicos séricos analisados em machos e fêmeas. A proteína total não demonstrou elevação significativa ($p > 0,05$) em sua concentração sérica de T0 a T8, e na sequência em T16 o valor sérico reduz significativamente ($p < 0,05$) quando comparado a T8, enquanto que no T32 retorna a tendência de elevação, porém de forma não significativa ($p > 0,05$), mantendo, assim o perfil de estabilidade ao longo do período estabelecido. Comportamento relativamente semelhante a albumina, que também demonstra oscilações discretas de sua concentração sérica. Nesta, os resultados de T16 e T32 são semelhantes entre si ($p > 0,05$), mantendo a estabilidade nesses dois momentos, porém comparativamente aos valores de T0 e T4 percebemos valores marcadamente mais elevados nos tempos finais da análise ($p < 0,05$). As globulinas demonstraram elevação contínua de sua concentração nos tempos T0 a T8, porém não significativo ($p > 0,05$), seguido de queda significativa ($p < 0,05$) dos valores a partir de T16, com discreto aumento em T32, que quando comparados aos tempos T0, T4, T8, também demonstram diferenças significativas ($p < 0,05$). A relação A:G também sofreu discretas variações ($p > 0,05$) em sua concentração ao longo dos tempos T0 a T8, e aumento considerável ($p < 0,05$) em sua concentração a partir de T16 que se mantém em T32. O fósforo demonstrou queda de sua concentração até o momento T8 com ($p > 0,05$) e em T16 uma elevação significativa ($p < 0,05$) quando comparado ao tempo anterior, seguido de nova queda na concentração em T32 com ($p < 0,05$) ao ser comparado com T16. Na análise da relação Ca:P, pode-se perceber uma flutuação dos valores de concentração, com tendência de aumento, marcadamente em T8 que demonstrou ($p < 0,05$) em relação T0 e T16, com retorno da estabilidade inicial em T32. O magnésio demonstrou queda de suas concentrações ($p < 0,05$) ao longo dos tempos T0, T4, T8, seguido de elevação ($p < 0,05$) de sua concentração sérica em T16, quando comparado a T0 e ao tempo anterior T8 e retorna relativamente a um estado de estabilidade analítica no tempo final T32 ao se comparar com a dosagem inicial T0. Sobre a glicose, pode se notar oscilações da concentração sérica durante os tempos estabelecidos, porém em sua maioria de forma não significativa ($p > 0,05$). Sendo observado no tempo final T32 concentração estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparado a T16. O ácido úrico também, não demonstrou linearidade nos valores obtidos, com tendência de aumento ($p > 0,05$) em T0, T4 e T8 seguido de queda ($p < 0,05$) em T16 quando pareado a T8 e volta a elevar-se em T32, mas sem comprometer o caráter estável durante o período em questão. Os resultados do catabólito uréia, apresentam dois picos de elevação,

em T8 e T32 e quedas de valores em T4 e T16, com significância de resultados ($p < 0,05$) em T8 e T32 quando comparados a T4. A amilase apresentou valores mais elevados em T4 e T8 do que em T0 ($p < 0,05$) com discreta queda de seus níveis séricos em T16, mantendo estabilidade quando comparado aos três tempos anteriores ($p > 0,05$), seguido de queda em T32, mas que ainda mantém estabilidade com o tempo anterior T16 e com a dosagem inicial ($p > 0,05$). De forma geral as enzimas ALT e AST demonstraram variações relativamente semelhantes, com alternâncias entre aumentos seguidos de redução das concentrações séricas, mas que ao final mantiveram a estabilidade durante os tempos avaliados. Exceto em ALT quando são percebidas diferenças estatísticas de T0 com T4 e também com T16 ($p < 0,05$), enquanto que em AST o mesmo ocorre entre T8 e T16 quando comparado com T0, T4 e T32 respectivamente. Sobre LDH houve redução dos valores séricos de T0 a T8 ($p > 0,05$). Enquanto que nos tempos T16 e T32 notou-se aumento dos valores quando comparados ao tempo T8 ($p < 0,05$) e igualdade ($p > 0,05$) quando comparados a T0 e T4. A enzima CK teve um comportamento de alternância dos seus níveis séricos, com queda dos valores séricos em T4 e T8, com diferenças estatísticas ($p < 0,05$) de T0 com T4, T8 e T16 e retorno dos valores séricos próximos a dosagem inicial T0 principalmente T32.

DISCUSSÃO

Devido à escassez de dados sobre o perfil bioquímico sérico de *Trachemys scripta elegans*, os valores obtidos no presente estudo foram confrontados com os resultados de outras espécies, encontrados por diversos pesquisadores. As concentrações séricas de cálcio total, tanto de machos ($9,58 \pm 1,26$ mg/dL) quanto nas fêmeas ($16,71 \pm 1,95$ mg/dL) estão acima da média demonstrada sobre a espécie *Podocnemis expansa* ($7,0 \pm 1,9$ mg/dL) por Fonseca et al. (2016) e ($7,08 \pm 1,04$ mg/dL) por Santos et al. (2005). Ao comparar com Wilkinson (2004) os valores das médias para fêmeas, são superiores para a grande maioria dos quelônios demonstrados pelo autor, exceto nas espécies terrestres *Gopherus agassizii* (17.23 mg/dL), *Malacochersus tornieri* (18.44 mg/dL) e *Dipsochelys Gigantea* (18,04 mg/dL). Segundo Campbell (2015) a concentração sérica de cálcio total em répteis varia de (8 a 11 mg/dL), valores que concordam com a média encontrada em machos deste estudo, porém inferiores à média das fêmeas. Diante da diferença estatística percebida entre machos e fêmeas do presente estudo, para o cálcio total, com predomínio de valores acentuados e fora do limite de referência estabelecido para répteis, em sua maioria somente nas fêmeas, é possível excluir as possibilidades de causas iatrogênicas e patológicas, que desencadeariam a hipercalcemia em todos os animais cativos do plantel, independente do fator sexo (Silvestre et al. 2013). A variação do cálcio total (9,0 a 17,0 mg/dL) em tartarugas do deserto (*Gopherus agassizii*) obtidos por Rosskopf Junior (1982), bem como (9,5 a 18,3 mg/dL) de jabutis panqueca (*Malacochersus tornieri*), demonstrados por Raphael et al. (1994), concordam com ambas as médias de machos e fêmeas. Apesar de que esses últimos autores, também afirmam que houve um predomínio de valores mais elevados nas fêmeas. Os níveis séricos de cálcio total de fêmeas do presente estudo, foram superiores aos resultados encontrados por Samour et al. (1986) ($11,62 \pm 4,0$ mg/dL) para tartarugas gigantes, Marks & Cintino (1990) (10,8 a 14,4 mg/dL) para tartaruga irradiada (*Astrochelys radiata*), Ghebremeskel et al. (1991) também para tartarugas gigantes ($9,3 \pm 2,5$ mg/dL), Bolten e Bjorndal (1992) ($9,1 \pm 2,1$ mg/dL) em tartarugas verdes (*Chelonia mydas*), Mader (1996) para quelônios de uma forma geral (12,7 mg/dL), Mundim et al. (1999) ($9,25 \pm 1,40$ mg/dL) para *Podocnemis expansa* e Ferreira (2002), que estudou *Chelonoidis carbonária* e *Chelonoidis denticulata*, cativos, apresentando média do plantel ($10,79 \pm 1,36$ mg/dL), e afirma que observou valores significativamente mais elevados nas fêmeas. Enquanto que Pereira et al. (2015) descreve não haver diferenças estatísticas para o cálcio quanto ao sexo, com média de (9,02 mg/dL) para machos e (9,05 mg/dL) para fêmeas de jabutis (*Chelonoidis carbonária*), também alojados em recintos do (LAPAS-UFU). Segundo Crawshaw e Holz (1996), os níveis de cálcio total de *Trachemys scripta elegans* com e sem contaminação por linfa foram respectivamente ($14,4 \pm 0,4$ mg/dL) e ($15,6 \pm 4,8$ mg/dL). Valores semelhantes entre si que podem subsidiar a hipótese de que mesmo havendo uma eventual contaminação por fluidos linfáticos do sangue total, no momento de coleta, esse parecer não ser a causa da diferença estatística existente entre machos e fêmeas do presente estudo. De acordo com Whiting et al. (2007) os valores séricos de cálcio total de duas populações ecologicamente distintas de tartarugas verdes foi (7,29 mg/dL) e (6,21 mg/dL), respectivamente. Ambas as concentrações são relativamente inferiores aos níveis de cálcio total de machos e fêmeas desta pesquisa. Em seus estudos, sobre o perfil bioquímico sérico de cascavéis (*Caudisona durissa*) em cativeiro, Silva et al (2010) obteve (15,25 mg/dL) de valor médio para o cálcio total sérico; valor que se assemelha apenas aos resultados das fêmeas de *Trachemys scripta elegans* do presente estudo. Certo de que o alojamento, aspectos nutricionais e sanitários destes animais, estão de acordo com as principais literaturas científicas para quelônios em cativeiro e confirmado pela higidez dos animais, pode-se inferir a possibilidade de que as diferenças entre machos e fêmeas não é propiciado por

erros de manejo estabelecido. E sim, pelo momento fisiológico das fêmeas deste plantel, que possivelmente estavam em atividade pré-reprodutiva, de preparação para vitelogênese e submetidas a forte indução de estrógeno, por ocasião da coleta de amostra, acarretando em hipercalcemia da reprodução, concordando com Lima et al. (2012) que afirma, a possibilidade de elevação do cálcio total, de duas a quatro vezes o valor normal, quando a fêmea se encontra em fase reprodutiva.

Os valores de fósforo nos machos ($3,85 \pm 1,77$ mg/dL) e nas fêmeas ($4,76 \pm 1,32$ mg/dL), ficaram compreendidos dentro do parâmetro estabelecido para répteis (1 a 5mg/dL) por Martínez-Silvestre (2013), e apesar das fêmeas terem níveis mais elevados de fósforo do que os machos, sem significância estatística, não foi suficiente para equacionar a relação cálcio/fósforo, que ficou estatisticamente mais elevada em fêmeas ($3,68 \pm 0,87$ mg/dL) do que em machos ($2,75 \pm 0,70$ mg/dL), em função dos níveis superiores de cálcio total das fêmeas. Valores semelhantes também foram observados para a média da relação cálcio/fósforo estabelecida para *Crotalus durissus collilineatus*, ($3,98 \pm 1,35$ mg/dL), também mantidas em cativeiro (Vieira 2015). Os níveis séricos de fósforo deste grupo de *Trachemys scripta elegans*, pouco se assemelha aos achados de White et al (2022) sobre tartarugas irradiada (*Astrochelys radiata*), com concentração sérica de fósforo entre (1,0-1,10 mg/dL). O mesmo autor, relata também, uma variação de (3,6-4,0 mg/dL) de relação cálcio/fósforo, valores mais próximos ao das fêmeas deste estudo. Guardada as devidas proporções, as fêmeas de répteis tem um metabolismo de cálcio e fósforo sérico, bem como a relação destes, semelhantes ao de aves quanto a mobilização para a produção de ovos. Da mesma forma que o cálcio, o fósforo sérico em répteis, parece ter sua concentração plasmática influenciada pelo sexo, preponderantemente em animais de vida livre, com fêmeas possuindo teores significativamente mais elevados do que os machos (Campbell 2015). Possivelmente, a diferença estatística existente na relação cálcio/fósforo entre machos e fêmeas, esteja relacionada ao comportamento desses minerais durante o desenvolvimento folicular que antecede a ovulação.

A concentração sérica do cálcio ionizado dos machos ($4,87 \pm 0,79$ mg/dL) está levemente acima da média descrita por Santos et al (2005) para *Podocnemis expansa* mantidas em criatório comercial ($4,41 \pm 0,60$ mg/dL). Comportamento que se repete de forma mais intensa nas fêmeas deste estudo ($8,97 \pm 1,33$ mg/dL). Quando comparado ao resultado de cálcio ionizado ($4,80 \pm 1,2$ mg/dL) de *Chelonia mydas*, relatado por Bolten & Bjorndal (1992), pode se observar que os machos de *Trachemys scripta elegans*, demonstraram resultados semelhantes, ao contrário das fêmeas que tiveram o dobro da concentração sérica de cálcio ionizado. Campbell (2015) afirma ainda, que os valores de referência do cálcio ionizado de iguanas verdes (*Iguana iguana*) sadias é ($5,9 \pm 0,42$ mg/dL) valor aproximado ao de machos deste estudo, porém abaixo dos valores obtidos em fêmeas. Essa marcada diferença entre os sexos para o cálcio ionizado diverge do consenso de que independentemente da idade e do sexo, o cálcio ionizado se mantém estável em répteis saudáveis.

Os resultados obtidos para o colesterol tanto nos machos ($92,00 \pm 30,05$ mg/dL) quanto nas fêmeas ($185,65 \pm 70,08$ mg/dL) obtidos, foram semelhantes ao descritos por Alves (2013) em *Trachemys scripta elegans* ($128,55 \pm 76,92$ mg/dL). Pereira (2015) não observou diferenças estatísticas para o colesterol de machos (118,50 mg/dL) e fêmeas (172 mg/dL) de *Chelonoidis carbonária* mantidas em cativeiro. Porém, pode se observar que é um resultado semelhante ao deste estudo com *Trachemys scripta elegans*, com as fêmeas possuindo valores mais elevados de colesterol sérico do que os machos. O que contraria a hipótese de que existe influência do sexo nos níveis séricos desse lipídio, com valores mais elevados nos machos do que nas fêmeas. E segundo Howard et al. (2007), fatores como variações estacionais, ingestão de gordura na dieta, além da mobilização tecidual e sua consequente utilização como fonte alternativa de energia química para manutenção, podem influenciar tanto na concentração do colesterol quanto de triglicérides. Os resultados de colesterol sérico dos machos deste estudo foram próximos ao de machos de vida livre ($85,25 \pm 10,43$ mg/dL) de jacaré-açú (*Melanosuchus niger*) descrito por Caixeta et al. (2015). Enquanto que Goldberg et al (2011) afirmam, que a média de colesterol sérico de fêmeas de tartarugas-cabeçudas (*Caretta caretta*) de vida livre é ($247,75 \text{ mg/dL} \pm 48,52$). Foi relatado por Silveira et al. (2017) valores de colesterol sérico para machos (161mg/dL) e fêmeas (255 mg/dL) de lagartos da espécie *Iguana iguana*, concentrações que se aproximam dos resultados de fêmeas deste plantel. Mas abaixo quando comparados aos resultados de colesterol plasmático de iguanas verdes ($1027,78 \text{ mg/dL}$ a $3273,68 \text{ mg/dL}$) relatado por Divers et al (1996) e por Knotek et al. (2002) que obtiveram média de (2398.16 mg/dL) também para iguanas verdes. Em desacordo com as diferenças quanto ao sexo, observadas neste estudo, Vieira et. al (2014) descreveram que os valores de colesterol sérico de machos ($201,19 \pm 70,28$ mg/dL) e fêmeas ($213,62 \pm 69,54$ mg/dL) de cascavéis (*Crotalus durissus collilineatus*) mantidas em cativeiro, não demonstram diferenças estatísticas significativas. O efeito pós-prandial tem sido incriminado no aumento da concentração plasmática e/ou sérica desses lipídios em répteis. Neste caso, não parece ser a única possibilidade, e sim uma amplificação sobre o período reprodutivo das fêmeas, uma vez que a coleta de sangue foi realizada no início da manhã, antes de ser ofertada alimentação ao plantel. Apesar da afirmação

de Price et al. (2012) que tartarugas em jejum, cumprem no mínimo 5 dias sem receber alimentos. Diante dos resultados encontrados para o cálcio, fósforo e a relação destes minerais, associados as diferenças estatísticas entre machos e fêmeas também para triglicérides e colesterol, não se pode descartar a possibilidade de que os aumentos da concentração sanguínea destes lipídios séricos nas fêmeas, estejam associados ao momento reprodutivo.

Os resultados de triglicérides demonstraram haver diferença estatística quanto ao sexo, neste plantel. Com valores preponderantemente mais elevados nas fêmeas ($795,78 \text{ mg/dL} \pm 356,4$). Discordando de Vieira et al. (2014) que obtiveram média geral de ($60,12 \text{ mg/dL} \pm 84,74$), mas que não encontram diferenças entre machos ($49,36 \text{ mg/dL} \pm 53,32$) e fêmeas ($70,87 \text{ mg/dL} \pm 107,36$) quanto a concentração sérica de triglicérides de cascavéis em cativeiro. Knotkova et. al (2008) relataram uma variação de ($87,5\text{-}262,5 \text{ mg/dL}$) para um pequeno grupo de fêmeas de *Trachemys scripta elegans* em jejum, valores que não corroboram com os resultados de fêmeas deste estudo. Frente a essa discordância, pode pressupor que a metodologia laboratorial utilizada por Knotkova et. al (2008), bem como, as condições estacionais e climáticas, manejo e momento fisiológico do grupo estudado por eles, diferem dos animais desse estudo. De acordo com Kuchling (1993), assim como o colesterol, os teores de triglicérides em fêmeas de quelônios são mais intensos nas fases de acasalamento e vitelogenese. Em contrapartida, da mesma forma que os níveis séricos de triglicérides são elevados na fase reprodutiva, quando os animais estão sexualmente inativos ou malnutridos, é possível que ocorram baixas concentrações desses lipídios séricos (Cuenca 2013). O que parece não ocorrer nesse grupo de animais que demonstram níveis séricos elevados tanto de colesterol quanto de triglicérides, com predomínio nas fêmeas. Guardada as devidas proporções, por se tratarem de espécies e habitats distintos, Hamann et al. (2002) concluíram que a concentração plasmática de triglicérides e proteínas totais aumentaram consideravelmente em fêmeas vitelogênicas de tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) entorno de 6 meses antes da estação reprodutiva.

Os valores séricos de creatinina foram de ($0,43 \text{ mg/dL} \pm 0,20$) em machos e ($0,73 \text{ mg/dL} \pm 0,39$) para fêmeas. Campbell (2007) afirma que o parâmetro deste catabólito em répteis é até ($1,0 \text{ mg/dL}$), portanto os animais estavam dentro da normalidade. Apenas os machos de *Trachemys scripta elegans* desta pesquisa, obtiveram valores semelhantes de creatinina quando comparados aos estudos de Glaser (2013) que encontrou concentrações de creatinina ($0,45 \text{ mg/dL} \pm 0,11$) para *Bothropoides jararaca* e ($0,61 \text{ mg/dL} \pm 0,31$) para *Bothrops jararacussu*, Kolesnikovas et al. (2001) relatam uma variação de ($0,59 \pm 1,49 \text{ mg/dL}$) de creatinina em *Bothrops* e *Caudisoma durissa* ($0,57 \text{ mg/dL} \pm 0,27$). Os resultados de creatinina sérica obtidos em fêmeas do presente estudo, discordam dos observados por Salvarani et. al (2017) que relata o valor de ($0,57 \text{ mg/dL} \pm 0,27$) de creatinina, para um grupo de tartarugas marinhas (*Eretmochelys imbricata*) fêmeas. Neste caso é coerente relativizar a divergência entre os valores de creatinina encontrados neste estudo com o de Salvarani et al. (2017), uma vez que estes, trabalharam com dosagens no plasma. Em sua maioria, no que tange sobre a concentração sérica de creatinina, é percebido que apenas as fêmeas deste estudo, possuem valores mais elevados quando comparados a outras espécies de testudines, observado também nos achados de Roskopf Jr (1982) para (*Gopherus agassizi*) ($0,1\text{-}0,4 \text{ mg/dL}$), Taylor Jr & Jacobson (1992) (*Gopherus polyphemus*) ($0,1\text{-}0,4 \text{ mg/dL}$) e Raphael (1994) para jabutis panqueca ($0,1\text{-}0,3 \text{ mg/dL}$). A creatinina é um composto normal do produto urinário de mamíferos, mas, na maioria dos répteis, a quantidade formada é irrisória. Seus níveis no sangue em geral são considerados de pouco valor de diagnóstico na doença renal de espécies de répteis. Pontualmente neste caso, é possível que a diferença estatística observada entre machos e fêmeas para creatinina, esteja relacionado a massa corporal mais robusta das fêmeas, conforme observado por Glaser et al. (2013) em *Bothrops jararacussu*.

De acordo com Martinez-Silvestre, Lavin & Cuencas (2013) o parâmetro bioquímico sérico ou plasmático de aspartato aminotransferase (AST) em répteis hígidos é inferior a (250 U/L). Apenas as fêmeas ($161,73 \text{ U/L} \pm 55,61$) deste estudo demonstraram valores que estão de acordo com essa referência, enquanto que nos machos ($415,40 \text{ U/L} \pm 190,22$) o valor obtido foi consideravelmente mais elevado. Alves (2013) obteve o valor médio ($119,03 \text{ U/L} \pm 54,7$) de AST sérica para uma pequena coleção de *Trachemys scripta* spp., mantidas em cativeiro. Resultado que pouco se assemelha aos animais deste experimento. O autor, afirma ainda, a possibilidade de diferenças nos resultados de AST e outras enzimas, como alanina aminotransferase (ALT) e lactato desidrogenase (LDH) a depender do uso ou não de anticoagulante pra coleta. Com valores significativamente mais elevados dessas enzimas no plasma do que no soro e que esta diferença poderia estar associada a lise celular *in vitro*, uma vez que as hemácias possuem quantidades relevantes dessas isoenzimas, ocasionando incremento na amostra. O intervalo de referência para *Astrochelys radiata* foi descrito por White et al. (2022), sem distinção de sexo, afirmaram que AST teve uma variação de ($74\text{-}95 \text{ U/L}$). Valores que pouco se assemelham ao deste plantel. Andreani et al. (2014) encontraram diferenças significativas entre machos ($190 \text{ U/L} \pm 50$) e fêmeas ($88 \text{ U/L} \pm 30$) para a AST de tartarugas do mediterrâneo (*Testudo hermanni*), também coletadas durante o verão. Apesar de corroborar com este estudo, deve se levar em consideração que se trata de espécies diferentes de quelônios, submetidas

a condições climáticas distintas. Segundo Lavin et al. (2003) para *Testudo marginata*, Hoffman et al. (2001) para *Testudo hermanni*, *Testudo graeca*, *Testudo marginata* e *Agrionemys horsfieldii* e Zaias et al. (2006) sobre *Geochelone radiata*, os valores de ALT nestas espécies também demonstraram baixa atividade sérica quando comparada a AST. Silva et al. (2013) relatam valores de AST marcadamente inferiores em machos ($6,43 \text{ U/L} \pm 4,87$) quando comparado as fêmeas ($17,40 \text{ U/L} \pm 26,59$) de jiboia (*Boa constrictor*), discordando dos resultados deste estudo. Nos répteis o comportamento das enzimas hepáticas demonstra semelhança com a de aves e mamíferos. A histologia do fígado de répteis apresenta intensa atividade de LDH e AST e, embora escassas pesquisas tenham abordado o perfil bioquímico sanguíneo destes indivíduos, com o objetivo de se avaliar o funcionamento do fígado, o aumento da concentração sérica dessas enzimas concomitantes, pode ter como hipótese provável a lesão hepática. Especificamente, a respeito da enzima AST em répteis, essa não é considerada específica para nenhum órgão, podendo ser encontrada em variados tecidos do animal. Porém, de forma geral o aumento da concentração sérica dessa enzima, é sugestivo de injúria muscular ou hepática, assim como patologias generalizadas, como a sepse e toxemia, que podem sobrecarregar esses tecidos e ocasionar um aumento de AST no sangue (Boyd et al. 1988). Na rotina laboratorial, em sua maioria, a avaliação de AST é pareada aos resultados de LDH e creatina fosfoquinase (CK), como tentativa de se diagnosticar a possibilidade de injúrias de musculatura estriada e/ou doenças hepatobiliares. Pontualmente, neste plantel de *Trachemys scripta elegans*, os machos obtiveram ($2092,45 \pm 1586,95$) de CK enquanto que as fêmeas ($1397,61 \pm 720,17$). Apesar de não ser constatada diferença estatística significativa quanto ao sexo para esta enzima, é possível notar valores relativamente maiores nos machos. Segundo White et al. (2022) tartarugas irradiadas em cativeiro obtiveram variação de (478-1165 U/L) de CK, resultado que pouco se assemelha ao obtido neste estudo. Apesar do aumento concomitante de AST, LDH e CK nos machos, no caso específico deste grupo de quelônios, a diferença observada nos valores de AST não parece estar associada as possíveis doenças mencionadas, uma vez que outras provas laboratoriais e a própria avaliação clínica, demonstraram que os animais estavam saudáveis. Não se pode descartar a possibilidade de que esse valor de AST acentuado nos machos esteja eventualmente relacionado com a intensa atividade muscular, decorrente de um estado de agressividade nos momentos de estação de acasalamento e de coleta de sangue.

De forma similar a AST a enzima LDH nos machos ($2591,20 \text{ U/L} \pm 1336,95$) também tiveram valores significativamente mais elevados do que as fêmeas ($1319,40 \text{ U/L} \pm 590,17$). Os valores de LDH obtidos nesse plantel de *Trachemys scripta elegans*, discordam dos resultados relatados por Pereira (2015), para uma espécie de jabuti, (*Chelonoidis carbonária*) ($187,10 \text{ U/L} \pm 105,90$) mantida em cativeiro no bioma de cerrado e de Carpenter (2005) também para *Chelonoidis carbonária* ($428 \text{ U/L} \pm 228$) e *Chelonoidis elegans* ($667 \text{ U/L} \pm 297$). Da mesma forma, não corrobora com os achados de Dutton & Taylor (2003) que não observaram diferença significativa entre machos e fêmeas de serpentes da família viperidae. Os resultados apresentados por Andreani et al. (2014) para machos ($509 \text{ U/L} \pm 97$) e fêmeas ($360 \text{ U/L} \pm 30$) de tartarugas híbridas da espécie *Testudo hermanni* ssp., corroboram com a hipótese de que haja diferença quanto ao sexo para esta enzima, com predomínio valores mais elevados nos machos. Para tartarugas-oliva (*Lepidochelys olivacea*) em fase reprodutiva, os valores de LDH apresentados foram para fêmeas ($710 \text{ U/L} \pm 266$) e machos ($1242 \text{ U/L} \pm 451$) (Santoro 2008). É consenso na Medicina de répteis que existem concentrações relevantes de LDH nos diversos tecidos desses animais. Não podendo se excluir a hipótese de injúria hepática e/ou na musculatura estriada, quando ocorre aumento da atividade sanguínea acima de (1000 UI/L) (Campbell 2015). Esta hipótese é provável de ter ocorrido nos animais desse plantel, principalmente nos machos, que por ocasião da coleta, demonstraram reluta e estresse com intensa contração da musculatura estriada esquelética. Além da questão do estresse de coleta supracitado, deve se enaltecer que na manutenção de répteis em cativeiro, oriundos de doações e resgates, é prática comum a introdução de um novo macho dentro do recinto onde já existe um macho dominante e que esta ação pode produzir um expressivo impulso reprodutivo dentro daquele grupo cativo. E na sequência, pode haver um estímulo de competição entre os machos, por vezes desencadeando combates e enfrentamentos seguidos de copulação, o que aumenta o apetite sexual destes pelas fêmeas e também parece estimular o cio delas. E esta prática de manejo, eventualmente pode causar injúrias na musculatura estriada dos machos, levando a derramamento das enzimas AST, CK e LDH.

O conhecimento da influência do tempo e da temperatura de acondicionamento das amostras na estabilidade analítica, é essencial para a obtenção do perfil bioquímico sérico. Na atualidade, existe uma expressiva falta de informações sobre os efeitos dessas grandezas no armazenamento de soro para a avaliação de diferentes elementos bioquímicos, e os poucos conteúdos encontrados na literatura para animais, são geralmente ambíguos (Marjani 2006). Além disso, imprecisões na fase pré-analítica, podem afetar resultados laboratoriais e, portanto, devem ser minimizados.

Sobre a estabilidade analítica de proteínas totais deste grupo de animais, observou-se diferenças estatísticas significativas apenas de T8 com T16 e T32. Os valores oscilaram durante o tempo proposto. E

mesmo que retornando no tempo final a níveis semelhantes ao do tempo inicial T0, o que garantiu certa estabilidade, mas eventualmente poderia dificultar a aplicação desta forma de acondicionamento de amostras na rotina clínica e, portanto, requer critérios para adoção desta prática de armazenamento. Os resultados de proteínas totais se assemelham aos do estudo de Alberghina et al. (2012) com equinos hígidos, que também observaram oscilações na concentração sérica desse analito, porém em diferentes tempos e temperaturas de armazenamento das amostras. Ainda sobre os níveis de proteínas totais deste grupo de tartarugas, há uma convergência de resultados com os achados de Kachhawa et al. (2017) e de Oliveira et al. (2011). Em parte, as pesquisas de Comis (2006), se assemelham aos resultados de proteínas totais do presente estudo. Apesar de observar resultados de estabilidade para proteínas totais, quando a amostra era mantida em temperatura ambiente por 48 horas e em temperatura de refrigeração (4°C) por até 30 dias aproximadamente. Todavia, quando armazenada em congelamento (-20°C), o autor sinaliza para alterações significativas nos valores de proteínas totais, embora as médias tenham se mantido dentro dos valores de referência para equídeos. De acordo com Thoresen et al. (1995), o acondicionamento das amostras não interfere nos níveis de proteínas totais por até 240 dias, quando mantidos em temperaturas de congelamento (-20 e -70 °C). Uma vez que mesmo havendo oscilações, os níveis se mantêm dentro dos valores de referências. Esta observação do autor se refere a mamíferos e não corrobora com os valores dos elementos proteicos encontrados neste estudo. Ainda mais, em sua maioria, os autores confrontados utilizam de metodologias laboratoriais distintas da usada neste estudo.

O comportamento da albumina e de globulinas foi semelhante às proteínas totais, no tocante a oscilação dos níveis séricos. Entretanto em ambas, os resultados nos dois tempos finais, divergem do valor das amostras frescas. Resultados que pouco concordam com Camargo et al. (2019), num estudo de estabilidade analítica sobre *Podocnemis expansa* e também com Oliveira et al. (2016) para equinos Quarto de Milha. Tendo como referência os valores da amostra fresca, Cray et al. (2009) afirmam que a albumina demonstra certa estabilidade ao longo de 30 dias de acondicionamento em temperatura de (-20°C). Sobre a relação albumina/globulina, pode-se perceber uma discreta tendência de queda dos níveis séricos de T0 a T8, sem significância estatística, garantindo estabilidade por até 8 dias de congelamento. Esse comportamento analítico da relação albumina/globulina, discordam de Alberghina et al. (2012).

Quanto ao fósforo, observou-se variações em suas concentrações séricas, em que T16 diferiu estatisticamente de T8 e T32. Comportamento que contradiz a estabilidade apontada desse mineral (Gislefoss et al. 2008, Oliveira et al. 2011, Oddo et al. 2012, Singh et al. 2015, Kachhawa et al. 2017), enquanto que Rehak & Chiang (1988), afirmam que esse elemento sérico demonstra pujante sensibilidade frente a pequenas variações de temperatura. Desta forma, não podendo descartar a possibilidade dessa interferência durante o descongelamento das amostras de tartarugas, na preparação que antecede a dosagem no aparelho de automação. Ainda sobre o fósforo, Heins, Heil & Withold (1995) também descreveram variações significativas dos níveis séricos de fósforo, durante o período de acondicionamento do soro em metodologia semelhante ao presente estudo, achado que se opõe aos relatos de Thoresen et al. (1995) e Rosato (2007), que observaram concentrações séricas de fósforo estáveis em amostras de soro de cães hígidos mantidas congeladas a (-20° e -70° C) por até 90 dias.

Sobre a relação cálcio/fósforo é percebido que houve flutuações dos níveis séricos ao longo dos tempos, mas que ainda manteve relativa estabilidade durante o período proposto. Possivelmente este comportamento está relacionado as variações do fósforo que se contrapõem a estabilidade do cálcio. Haja vista, que em metodologia semelhante, Camargo et al. (2019) também constatou estabilidade do cálcio quando armazenado em congelamento de (-20° C). Resultados que confirmam os achados de Gislefoss et al. (2008) e de diversos outros pesquisadores, em amostras de humanos e animais, que descrevem que esse mineral tem estabilidade analítica por longo período de tempo, quando submetido a temperaturas aproximadas a do presente estudo. Cray et al. (2009) Singh et al. (2015) trabalharam com linhagens diferentes de roedores, e respectivamente observaram que houve elevação do cálcio depois de 360 dias de armazenamento a (-20° C) e quando em refrigeração por até 6 horas, o cálcio se mostrou instável, porém ao ser congelado manteve estabilidade por 1 mês. Em avaliações de amostras de soro humanos (Berg et al. 1981, Boyanton et al. 2002) também observaram estabilidade do cálcio. Enquanto que Baer & Krause (1968), reportam instabilidade deste mineral e que a possível causa foi contaminação durante a manipulação do soro.

No presente estudo, o comportamento do magnésio não demonstrou a estabilidade analítica reportada por Comis (2006), que avaliou amostras de equinos da raça Mangalarga Marchador. Enquanto que Thoresen et al. (1995), para cães, relata que o magnésio foi afetado somente pelo fator tempo de armazenamento, e (Heins et al. 1995), descreve que houve aumento dos valores de magnésio a partir de 7 dias, em amostras estocadas a (9° C).

De acordo com Colville (2005), os valores de glicose podem apresentar decréscimo de até (10%) em 1 hora, caso a amostra seja deixada em contato com as hemácias em temperatura ambiente. Apesar de

ser um consenso para amostras dosadas no plasma, não se pode excluir a interferência dessa possibilidade nos resultados desse elemento bioquímico. Porém, estatisticamente os resultados de glicose do presente estudo, apontam que é possível realizar a dosagem desta, em até 16 dias de congelamento a (-20° C) e ainda obter resultados fidedignos. Em metodologia relativamente distinta a deste estudo, Guppy et al. (1992) e Colville (2005) afirmam que quando as amostras são acondicionadas em temperaturas de (0 a 4° C), a glicose permanece estável por até 72 horas, enquanto que Oliveira et al. (2016) obtiveram estabilidade da glicose durante 90 dias de congelamento em temperatura igual. Em avaliações de ovinos, Morris et al. (2002) e de ratos Wistar, Spinelli et al. (2012), também descrevem estabilidade analítica da glicose durante os tempos propostos. Porém, num estudo com humanos, Marjan (2006) e Pahma et al. (2015) verificaram redução significativa na concentração de glicose à temperatura ambiente após 48 horas e sob congelamento após 24 horas, e assim fizeram inferência sobre a possibilidade de eritrócitos desta espécie, ter uma fragilidade maior frente a temperaturas mais elevadas ou diferenças relacionadas a variadas técnicas de análises clínicas do sangue.

Em Patologia Clínica Animal, agregar conhecimento acerca do ácido úrico em répteis é de fundamental importância, tendo em vista, que diversas espécies dessa classe excretam preponderantemente este catabólito pelo sistema porta-renal (Messonier, 1995). Neste grupo de *Trachemys scripta elegans* pode se perceber que o ácido úrico demonstra tendência de variação de sua concentração, quando congelado em temperatura de (-20° C), com predomínio de valores mais elevados que o da amostra fresca, embora não diferindo estatisticamente de T32. Esse resultado se assemelha ao encontrado por (Kachhawa et al. 2017), que também observaram instabilidade do ácido úrico, com redução seriada, porém sem diferir significativamente do valor da amostra inicial, em um período de 30 dias de congelamento, igualmente a (-20° C). Instabilidade do ácido úrico também é reportada por Cuhadar et al. (2012) e Cuhadar et al. (2013), após 48hs de armazenamento a (-4° C).

Os valores de ureia tiveram dois picos de elevação, em T8 e T32, diferindo apenas de T4. Quanto a oscilação de valores ao longo dos tempos de análises, é possível afirmar que houve semelhança com os achados de Camargo et al. (2019), com *Podocnemis expansa*. Uma vez que em ambos os estudos, o valor final desse catabólito é estatisticamente aproximado ao da amostra fresca, o que confere relativa estabilidade durante o período de análise. Porém deve ser enaltecido, que se trata de espécies distintas de quelônios, com massas corporais que não se assemelham, mantidas em diferentes condições de cativeiro e manejo, com suas amostras sanguíneas submetidas a técnicas laboratoriais totalmente diferentes. Portanto, os níveis de ureia em *Podocnemis expansa* são maiores, e que na avaliação dela, foi observado apenas um pico de elevação, em T4. Kachhawa et al. (2017) e Camargo et al. (2019) atribuem essas elevações a hipótese de contaminação bacteriana da amostra, mesmo não sendo observado nenhuma inconstância e proliferação no material. Todavia, os estudos de Cray et al. (2009), Oliveira et al. (2011), Oliveira et al. (2016) e Kachhawa et al. (2017) com metodologias semelhantes, relatam estabilidade da ureia, em diferentes espécies de mamíferos. Enquanto que Cuhadar et al. (2013), informaram ter percebido aumentos variáveis das concentrações de ureia em amostras de humanos, quando estas foram submetidas a acondicionamento de (-20°C). Os mesmos autores, citam ainda que existem limitações nos resultados de estudos que tem como base num grupo pequeno de pacientes. E que o ideal, era obter várias medições de cada tempo em questão, porém, em decorrência de limitações financeiras, não pode ser realizado nesta coleção de *Trachemys scripta elegans*. Afirmam ainda, que para se excluir a possibilidade de contaminação bacteriana da amostra, e o consequente viés sobre os resultados da ureia, deve-se aferir frequentemente o (pH) das amostras. Além disso, ao padronizar um analisador bioquímico com um determinado tipo de reagente, é possível ter significativas diferenças em relação a outros equipamentos e, portanto, os resultados podem não ser universalmente reproduzíveis.

A amilase apresentou elevação significativa em T4, quando pareado ao valor da amostra nos tempos T0 e T32. Seguindo de discretas variações, até retornar no ultimo tempo de análise a um valor estatisticamente igual a concentração basal T0. O resultado obtido na amostra fresca (370,27 U/L), discorda do valor de referência da amilase para *Trachemys scripta elegans* (91,21 U/L), descrito por Frye (1991) e nem com o padrão desta enzima para serpentes da espécie *Caudisoma durissa* (1385,23 U/L), reportado por Silva et al. (2010). Segundo Cox & Secor (2008) e Cox & Secor (2010), em cobras píton, há um notório aumento pós-prandial da função pancreática (85%), com consequente elevação da produção de enzimas proteases, lipases, amilases e soluções de bicarbonato de sódio (NaHCO₃), na tentativa de neutralizar o quimo ácido que chega do estômago. Da mesma forma, outros órgãos de pítons tem um aumento de atividade do parênquima, marcadamente fígado (93%) e rins (18%) (Secor, Taylor & Grosell, 2012). Em um dos primeiros trabalhos a respeito dos efeitos do armazenamento em baixas temperaturas sob a amilase sérica, Kachhawa et al. (2017) descrevem que os níveis dessa enzima diminuíram com o armazenamento prolongado.

Os resultados obtidos para as enzimas ALT e AST sofreram variações relativamente semelhantes, com alternâncias entre aumentos seguidos de redução das concentrações séricas, mas que ao final mantiveram a estabilidade durante os tempos avaliados. Quanto a ALT, observou-se diferenças estatísticas de T0 com T4 e com T16 ($p < 0,05$). Esses resultados diferem dos resultados de ALT e AST reportados por Kachhawa et al. (2017), que observaram decréscimo progressivo destas enzimas, porém sem significância estatística. Silva et al. (2017), num estudo com sangue de caninos, afirmam que o aumento sem significância estatística, proporcional ao tempo de armazenamento em amostras refrigeradas, pode ser atribuído pela variação intrínseca de cada animal, hipótese ratificada por Ruaux et al. (2012), que observaram uma baixa variação na atividade de ALT em amostras coletadas no mesmo animal. Além disso, os autores relataram que a temperatura de estocagem pode interferir na amostra, reduzindo sua variabilidade. Apesar de ser uma constatação para o acondicionamento de amostras em temperaturas de refrigeração, é possível extrapolar essa possibilidade para os resultados de outros analitos e também para temperaturas de congelamento, requerendo eventualmente estudos complementares com um plantel maior. Silva et al. (2017), observaram ainda, que nas amostras congeladas, verificou-se uma pequena oscilação, de forma não significativa, em relação aos tempos analisados, atribuído também pela variação intrínseca individual, além da diferença de volumes no processo de pipetagem das amostras durante os tempos analisados (Lemgruber et al. 2011). Thrall et al. (2015), afirmam que o congelamento do soro ou plasma pode resultar em perda considerável da atividade da ALT.

Sobre a enzima AST foi percebido oscilação dos níveis séricos, em sua maioria sem relevância estatística. Porém, com redução de atividade preponderantemente. Resultados que se assemelham relativamente aos resultados de *Podocnemis expansa*, detalhado por Camargo et al. (2019), estes que garantem que a enzima pode apresentar resultados confiáveis se as amostras forem dosadas até 1 semana após o congelamento a (-20°C). Herrmann et al. (2001), citam ainda que esse comportamento de perda de atividade pode estar relacionado a proteólise ocasionada por proteinases do soro, bem como agregação proteica e alterações de pH. Thoresen et al. (1995), num estudo de comparação de diferentes formas de acondicionamento das amostras (-20° e -70°C), observou que a enzima AST sofre mudanças de seus níveis apenas por influência de temperatura. Em uma pesquisa com *Rattus norvegicus*, Cray et al. (2009) afirmam ter obtido estabilidade desta enzima por até 1 mês de acondicionamento em congelamento de (-20°C), resultado que pouco se assemelha ao obtido neste estudo com *Trachemys scripta elegans*. A observação de perda de atividade da AST ao longo dos tempos de análise, mas sem que houvesse relevância estatística é descrita por Divya e Jayavardhanan (2012) sobre cães e por Singh et al. (2015) para roedores.

A LDH demonstrou oscilações ao longo dos tempos propostos na pesquisa. De T0 até T8, houve tendência de queda dos níveis séricos. Em T16 e T32 os valores foram superiores aos tempos anteriores, porém sem diferença estatística. Em todos os tempos analisados, os valores séricos de LDH se mostraram consideravelmente acima do valor de referência (20 UI/L) proposto por Campbell (2015). Este autor reporta ainda, que valores de LDH quando acima de (1000U/L), não se pode ignorar as possibilidades de hemólise, doença hepática ou injúrias de musculatura estriada. Esta última parece ser a hipótese factível, pois além do estresse da coleta de sangue, esta foi realizada em época de reprodução, momento que demanda intenso esforço muscular, principalmente dos machos e que pode ocasionar o derramamento dessa enzima na circulação. Thoresen et al. (1995), num estudo com amostras de caninos, relata que a LDH parece não sofrer influência dos fatores tempo e temperatura (-20°C), mas que foi observado diferenças da estabilidade analítica da amostra de soro com a plasmática. Colin et al. (1984) observaram que a enzima LDH de *Callithrix jacchus* se mostrou instável quando submetida a temperatura de congelamento (-20°C). Em metodologia distinta a esse estudo, Heins et al. (1995) descrevem elevação de LDH em amostras estocadas a (9°C) durante uma semana. Enquanto que Lohni e Thornton (1977) em pesquisa com soro de equinos, afirmam que quando a amostra é armazenada por período acima de três semanas a (-20°C), bem como (24 e 48h) em temperatura ambiente (25°C) a estabilidade dessa enzima se mostrou satisfatória. Segundo Jones (1985), Kaneko, Harvey e Bruss (1997) o armazenamento a (-20°C) preserva algumas enzimas, mas pode degradar outras, pois o congelamento ocasiona a formação de sais e a consequente liberação de alguns prótímeros instáveis ligados. E no ato de descongelar as amostras, esses podem se reagregar aleatoriamente, modificando a conformação enzimática e assim, inativar ou reduzir a função enzimática.

A Creatinofosfoquinase (CK) de forma semelhante a maioria dos elementos bioquímicos séricos, anteriormente citados, também demonstrou oscilações importantes ao longo dos tempos de análise. E apesar de ter apresentado diminuição de seus níveis séricos, nos tempos T4, T8 e T16; diferindo estatisticamente de T0. Este comportamento, se assemelha relativamente aos resultados de CK, apresentado por Camargo et al. (2019). A CK sabidamente é uma enzima órgão-específica para musculatura estriada esquelética e cardíaca e, portanto, o aumento de atividade dela, pode estar implicado com injúrias musculares, decorrente de intenso esforço físico. A literatura expõe diversos relatos de casos de répteis,

com elevações dos níveis séricos dessa enzima, após crises convulsivas ou coleta de sangue laboriosa, e embora, não tenha sido observada convulsão em nenhum exemplar desse plantel de *Trachemys scripta elegans*, não se pode descartar o estresse de coleta e seus efeitos sobre fibras musculares, além do fato dos animais estarem por ocasião de coleta, em momento reprodutivo, com intensa atividade muscular, principalmente dos machos. E de forma análoga a enzima LDH, a CK também é composta de diversas isoenzimas (Crother et al. 1999), e cada uma dessas podem manifestar resultados heterogêneos quando submetidas as mesmas condições de acondicionamento (Cho & Meltzer 1979). Em estudos com cães, potros e humanos, respectivamente, os autores Thoresen et al. (1995), Forsyth et al. (2006), Gislefoss et al. (2015) relatam diminuição de atividade de CK em diferentes tempos de análise. Ademais, Crother et al. (1999) e Gislefoss et al. (2015), afirmam que essa enzima é termolábil, e sua estabilidade é otimizada, quando as amostras são acondicionadas em compostos tiólicos, e quem eventualmente pode ocorrer diferenças interespecíficas na expressão e na conformação das isoenzimas que compõem a CK, podendo diminuir a atividade dessa enzima. As oscilações percebidas na atividade das enzimas avaliadas nas amostras de soro congeladas a (-20°C) por até 32 dias, podem ser associadas ao congelamento e posterior descongelamento para análise, conforme supracitado por JONES (1985) e Kaneko, Harvey & Bruss (1997). Os autores afirmam ainda, que o conhecimento da estabilidade analítica, dos constituintes bioquímicos séricos é de importância fundamental nas análises laboratoriais realizadas em exames bioquímicos de rotina clínica e pesquisas acadêmicas. Fato que deve ser considerado, sobretudo durante a avaliação de atividade das enzimas, uma vez que as oscilações na temperatura de acondicionamento podem alterar a velocidade da reação catalítica e promover a desnaturação das enzimas.

CONCLUSÕES

Quanto ao sexo, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para os elementos cálcio total, relação Ca:P, cálcio ionizado (Ca^{++}), colesterol, triglicérides e creatinina, com valores mais elevados em fêmeas e AST e LDH em machos. Verificou-se ainda, que proteínas totais, albumina, globulinas, relação A:G, fósforo, relação Ca:P, magnésio, glicose, ácido úrico, ureia, amilase, ALT, AST, LDH e CK, sofreram interferências ao longo dos tempos de armazenamento. Analitos como proteínas totais, relação A:G, cálcio total, fósforo, relação Ca:P, Ca^{++} , ferro, colesterol, triglicérides, ácido úrico, uréia, amilase, FAL, LDH e GGT, podem ser avaliados pouco mais de um mês após o congelamento. A glicose é estável por até 16 dias, albumina e globulinas em torno de 8 dias e AST em 4 dias, pós-congelamento. Enquanto que magnésio, amilase, ALT e CK são melhores avaliados em amostras frescas.

Conflitos de interesses.- Os autores declaram não ter conflitos de interesse.

Referências

- Alberghina D., Casella S., Giannetto C., Marafioti S. & Piccione G. 2013. Effect of storage time and temperature on the total 28 protein concentration and electrophoretic fractions in equine serum. *Canadian J. Veterinary Res.* 77(4): 293-296.
- Alves, G. M. Efeitos dos anticoagulantes – citrato de sódio, EDTA-K3e heparina sódica nas análises hematimétricas e bioquímicas em Araras Canindé (*Ara ararauna*), Tigre d'água (*Trachemys scripta*) e Pacamãs (*Lophosilurus alexandri*). Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais, 85p.
- Andreani G., Carpenè E., Cannavacciuolo A., Girolamo N.D., Ferlizza E. & Isani G. 2014. Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's tortoises (*Testudo hermanni ssp.*). *Vet. Clin. Pathol.* 43(4):573-583. <<https://doi.org/10.1111/vcp.12203>>
- Baer D.M. & Krause R.B. 1968. Spurious laboratory values resulting from simulated mailing conditions. A study of time and temperature variables. *Am. J. Clin. Pathol.* 50:111-9.
- Berg B, Estborn B & Tryding N. 1981. Stability of serum and blood constituents during mail transport. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 41:425-30. <<https://doi.org/10.3109/00365518109090479>>
- Bolten A.B. & Bjorndal K.A. 1992. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the Southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. *J. Wild. Diseases* 28(3): 407-413. <<https://doi.org/10.7589/0090-3558-28.3.407>>
- Bour R. 2008. Global diversity of turtles (*Chelonii; Reptilia*) in freshwater. *Hydrobiologia.* 595: 593-598. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8259-7_57>
- Boyanton B.L. & Blick K.E. 2002. Stability Studies of Twenty-Four Analytes in Human Plasma and Serum. *Clin. Chemistry* 48:12242-2247. <<https://doi.org/10.1093/clinchem/48.12.2242>>
- Boyd JW. 1988. Serum enzymes in the diagnosis of diseases in man and animals. *J. Comp. Pathol.* 98:381-404. <[https://doi.org/10.1016/0021-9975\(88\)90088-6](https://doi.org/10.1016/0021-9975(88)90088-6)>
- Buhlmann K.A., Hudson R.R. & Anders G.J. 2002. A global action plan for conservation of tortoises and freshwater turtles. Strategy and funding prospectus 2002-2007. Conservation International and Chelonian Research Foundation, Turtle Conservation Found, Washington, DC, 30p.
- Caixeta B.T., Monteiro E.M., Rocha P.V.P. & Santos A.L.Q. 2015. Concentrações bioquímicas séricas de jacaré-açu (*Melanosuchus niger*) machos, adultos de vida livre. *Pesq. Vet. Bras.* 35(Supl.1):51-55, <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2015001300009>>
- Camargo F., Abrão N.B., Queiroz T.D., Arhnold E., Araújo L.B.M. & Martins, D. B. 2019. Serum biochemistry of the Arrau turtle (*Podocnemis expansa*): Frozen analyte stability and the effects of long-term storage *Vet. Clin. Pathol.* 49:42-47. <<https://doi.org/10.1111/vcp.12828>>
- Campbell T. 2006. Clinical pathology of reptiles, p. 453-71. In: Mader DR (Ed). *Reptile medicine and surgery*. 2nd ed. Saunders Elsevier, St. Louis.
- Campbell T.W. 2007. Bioquímica Clínica de répteis. p. 461-466. In: THRALL, M.A. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. Roca. São Paulo.
- Campbell, T. W. 2015. Bioquímica Clínica dos Répteis. p. 525. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 2 ed. In: Thrall M.A., Weiser G, Allison RW & Campebell TW. Roca, São Paulo.
- Carpenter, J.W. 2005. *Exotic Animal Formulary*. 3 ed. Elsevier, St. Louis. 496p.
- Clima: Uberlândia. Clima-data.org. Disponível em: <https://pt.climatedata.org/location/2896/>. Acesso em: 11 out. 2022
- Colville, J. 2005. Bioquímica sanguínea, p.79-107. In: Hendrix C.M. *Procedimentos Laboratoriais para Técnicos Veterinários*. 4. Ed. Roca, São Paulo.
- Cohn W.D., Michael R.J. & Walker J.M. 1984. Stabilities of Some Constituents of Marmoset (*Callithrix jacchus*) Plasma under Various Conditions of Storage. *Clin. Chem.* 30(1):101-104. <<https://doi.org/10.1093/clinchem/30.1.101>>

- Comis M. B. 2006. Influência do tempo e temperatura sobre a estabilidade do soro e plasma sanguíneos de equinos Mangalarga marchador. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006. (Capturado em: <http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/4961?show=full>)
- Connor, M. J. The Red-Eared Slider: *Trachemys scripta elegans*. Tortuga Gazette, v. 28, n. 4, p.1-3, 1992.
- Cox C.L. & Secor S.M. 2008. Matched regulation of gastrointestinal performance for the Burmese python, *Python molurus*. J. Experimental Biol. 211:1131-1140. <<https://doi.org/10.1242/jeb.015313>>
- Cox C.L. & Secor S.M. 2010. Integrated postprandial responses of the diamondback water snake, *Nerodia rhombifer*. Physiol. Bioch. Zoo. 83(4): 618-631. <<https://doi.org/10.1086/648737>>
- Crawshaw G.J. & Holz P. 1996. Comparison of plasma biochemical values in blood and blood-lymph mixtures from red-eared sliders, *Trachemys scripta elegans*. Bull. Assoc. Rept. Amphib. Vet. 6:7-9. <<https://doi.org/10.5818/1076-3139.6.2.7>>
- Cray C., Rodriguez M., Zaias J. & Altman N.H. 2009. Effects of Storage Temperature and Time on Clinical Biochemical Parameters from Rat Serum. J. Amer. Assoc. for Lab. An. Sci. 48: 202-204.
- Cuhadar S., Atay A., Koseoglu M., Dirican A. & Hur A. 2012. Stability studies of common biochemical analytes in serum separator tubes with or without gel barrier subjected to various storage conditions. Biochem. Med. (Zagreb) 22:202-14. 23:70-7. <<https://doi.org/10.11613/bm.2012.023>>
- Cuhadar S., Koseoglu M., Atay A. & Dirican A. 2013. The effect of storage time and freeze-thaw cycles on the stability of serum samples. Biochem Med (Zagreb). <<https://doi.org/10.11613/BM.2013.009>>
- Divers S.J., Redmayne G. & Aves E.K. 1996. Haematological and biochemical values of 10 green iguanas (*Iguana iguana*) Vet. Record 138: 203-205.
- Divya P.D. & Jayavardhanan K.K. 2012. Storage stability of hepatobiliary enzymes in dog serum. J. Vet. Anim. Sci., 43:19-23.
- Dutra G.H.P. 2014. Testudines (Tigre d'água, Cágado e Jabuti). Capítulo 16. p 510. Tratado de Animais Selvagens. Tratado de animais selvagens: medicina veterinária / Zalmir Silvino Cubas, Jean Carlos Ramos Silva, José Luiz Catão-Dias. 2. ed. Roca, São Paulo, 2470 p.
- Dutton C. J. & Taylor P.A. 2003. Comparison between Pre- and Posthibernation Morphometry, Hematology, and Blood Chemistry in Viperid Snakes. Journal of Zoo and Wildlife Med. 34(1):53-58. [https://doi.org/10.1638/1042-7260\(2003\)34\[0053:ACBPAP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1638/1042-7260(2003)34[0053:ACBPAP]2.0.CO;2)
- Ernst H. & Barbour W. 1989. Turtles of the world. Swthsonian Institution. Washington and London. 184p.
- Ferreira, A. B. 2002. Perfil bioquímico sanguíneo de jabutis (*Geochelone carbonaria* e *Geochelone denticulata*). Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- Ferronato B.O., Marques T.S., Guardia I., Longo A.L.B., Piña C.I., Bertoluci J. & Verdade L.M. 2009. The turtles *Trachemys scripta elegans* (Testudines, Emydidae) as na invasive species in a polluted tream of southeastern Brasil. Herpetological Bulletin. 109:24-39.
- Fonseca F.O. 2001. Olhares sobre o lago Paranoá. Secretaria de Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Brasília, DF. 425p.
- Fonseca L.A., Maia N.L., Girardi F.M., Carvalho Filho W.P., Pimentel F.G. & Braga F.R. 2016. Avaliação de parâmetros bioquímicos séricos em Tartarugas-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) mantidas em cativeiro. Pesq. Vet. Bras. 36(12):1186-1189. <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X201600120000>>
- Forsyth S.F., Lopez-Villalobos N. & Rogers C.W. 2006. The effect on creatinine kinase activity of freezing plasma from healthy foals. New Zealand Veterinary Journal. 54(5):235-236. <<https://doi.org/10.1080/00480169.2006.36703>>
- Frye F.L. 1991. Hematology as applied to clinical reptile medicine, p.209-281. In: Frye F.L. (Ed.) Biomedical and Surgical Aspects of Captive Reptile Husbandry, 2nd, Publishing Company. Bensalem.
- Ghebremeskel K., Williams G., Spratt D. & Samour, H.J. 1991. Plasma biochemistry of free-living giant tortoise (*Geochelone gigantea*) on Curieuse Island (Republic of Seycheles), p.65-67. Comparative Biochemistry and Physiology, New York.

- Gislefoss R.E., Grimsrud T.K. & Morkrid L. 2008. Long-term stability of sérum 29 components in the Janus Serum Bank. *Scandinavian J. Clin. Lab. Invest.* 68(5):402–409. <<https://doi.org/10.1080/00365510701809235>>
- Glaser V., Boni A.P., Pitz H.S., Albuquerque C.A.C. & Zeni A.L.B. 2013. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de *Bothropoides jararaca* e *Bothrops jararacussu* (*ophidia-viperidae*) mantidas em cativeiro. *Arch. Vet. Sci.* 18(3): 68-74. <<http://dx.doi.org/10.5380/avs.v18i3.30088>>
- Goldberg D.W., Wanderlinde J., Freire I.M.A., Silva L.C.P. & Almosny N.R.P. 2011. IV Serum biochemistry profile determination for wild loggerhead sea turtles nesting in Campos dos Goytacazes. *Ciência Rural* 41(1):143-148. <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782011000100023>>
- Guppy M, Attwood PV, Hansen IA, et al. 1992. Ph, temperature and lactate production in human red blood cells: implications for blood storage and glycolytic control. *Vox Sang.* 62:70-75. <<https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.1992.tb01173.x>>
- Hamann M. & Limpus C.J. 2002. Whittier Patterns of lipid storage and mobilisation in the female green sea turtle (*Chelonia mydas*) J. *Comp. Physiol. B.* 172:485–493. <<https://doi.org/10.1007/s00360-002-0271-2>>
- Hawkins M.G., Kass P.H., Zinkl J.G. & Tell L.A. 2006. Comparison of biochemical values in serum and plasma, fresh and frozen plasma, and hemolyzed samples from orangewinged *Amazon parrots* (*Amazona amazonica*). *Vet. Clin. Pathol.* 35(2):219–25. <<https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2006.tb00118.x>>
- Heins M., Heil W. & Withold W. 1995. Storage of serum or whole blood samples? Effects of time and 282 temperature on 22 serum analytes. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 33(4):231-238. <<https://doi.org/10.1515/cclm.1995.33.4.231>>
- Herrmann M., Pape G. & Herrmann W. 2001. Stability of Serum β -Crosslaps during Storage; Influence of pH and Storage Temperature.pdf. *Clinical Chemistry*, 47(5):939–940.
- Howard D.L., Benesi F.J., Gacek F., Colho C.S. & Fernandes W.R. 2007. Determinações plasmáticas de glicose, colesterol e triglicérides em potras sadias, da raça brasileiro de hipismo. *Braz. J. Vet. Res. An. Sc.* 44(6):454-458.
- Jones D.G. 1985. Stability and storage characteristics of enzymes in cattle blood. *Res. Vet. Sci.* 38(3):301-306. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2861628>> Acesso em: 05 dez. 2022.
- Kachhawa K., Kachhawa P., Varma M., Behera R, Agrawal D. & Kumar, S. 2017. Study of the Stability of Various Biochemical Analytes in Samples Stored at Different Predefined Storage Conditions at an Accredited Laboratory of India. *J. Lab. Phys.* 9(1):11-15. <<https://doi.org/10.4103/0974-2727.187928>>
- Kaneko J.J. Harvey J.W. & Bruss M.L. 1997. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5 ed. Academic Press, San Diego. 932p.
- Knotek Z., Hauptman K., Knotková Z., Hájková P. & Tich F. 2002. Renal Disease Haemogram and Plasma Biochemistry in Green Iguana. *Acta Vet. Brno* 71:333–340. <<https://doi.org/10.2754/avb200271030333>>
- Knotkova Z., Dorrestein G.M.V., Janouskova J.J. & Knotek Z. 2008. Fasting and postprandial serum bile acid concentrations in 10 healthy female red-eared terrapins (*Trachemys scripta elegans*). *Vet. Rec.* 163:510-514. <<https://doi.org/10.1136/vr.163.17.510>>
- Kolesnikovas C.K.M., Dias J.L.C., Albuquerque R.L.C. & Grego K.F. 2000. Biochemical blood profile of Brazilian viperidae snakes kept in captivity. *Memórias do Instituto Butantan.* 59:141-142.
- Kolle P., Donhauser J., Krause D. & Hoffman R. 2001. Blood values of European tortoises *Testudo hermanni*, *Testudo graeca*, *Testudo marginata* and *Agrionemys horsfieldii*. *Tierarztl Prax. Ausg. K Kleintiere Heimtiere.* 29:386–392.
- Kuchling G. 1993. Possible Biennial Ovarian Cycle of the Freshwater Turtle *Erymnochelys madagascariensis*. *J. Herpetol.* 27(4):470–472. <<https://doi.org/10.2307/1564841>>
- Lemgruber A.P.M., Presgrave O.A.F., Presgrave R.F., Alves E.M. Silva R.S. Gímenes I. et al. 2011. Influencia do erro de micropipetas na dosagem espectrofotométrica do ensaio de endotoxina bacteriana (LAL cromogenico) aplicavel a produtos sujeitos a Vigilancia Sanitaria. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.* 70(3):368-72.

- Lima D.J.S., Bastos R.K.G., Seixas L.S., Luz M.A., Branco R.E., Souza N.F., Moraes C.C.G. & Meneses A.M.C. 2012. Variação sazonal dos valores de bioquímica sérica de jiboias amazônicas (*Boa constrictor constrictor*) mantidas em cativeiro. *Biotemas* 25(4):165-173. <<https://doi.org/10.5007/2175-7925.2012v25n4p165>>
- Lohni M.D., Thorton J.R. 1985. The effect of storage and handling on the activity of lactate dehydrogenase and its isoenzymes in horse serum. *Res.Vet. Sci.* 23:259-261. <[https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)33211-9](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)33211-9)>
- Lopez-Olvera J.R., Montan J., Ignasi M., Martinez-Silvestre A., Soler J. & Lavin S. 2003. Effect of venipuncture site on hematologic and serum biochemical parameters in marginated tortoise (*Testudo marginata*). *J. Wildl. Dis.* 39:830-836. <<https://doi.org/10.7589/0090-3558-39.4.830>>
- Mader, D.R. 1996. *Reptile Medicine and Surgery*. Philadelphia: W.B. Saunders. 512p.
- Magno J.A., Miguita K. & Oshiro M. 2017. Métodos alternativos para avaliar a concentração de Hemoglobina livre no plasma. *Bol Inst Adolfo Lutz.* 27: 1-3.
- Marjan A. 2006. Effect Of Storage Time And Temperature On Some Serum Analytes. *The Internet Journal of Laboratory Medicine*, 2(2). <<https://doi.org/10.3844/ajassp.2008.1047.1051>>
- Marks S.K., Cintino S.B. 1990. Hematology and serum chemistry of the radiated tortoise (*Testudo radiata*). *J. Zoo and Wild. Med.* 21(3):342-344.
- Martinez-Silvestre A., Lavin S. & Cuenca R. 2013. La bioquímica sanguínea en clínica de reptiles. *Consulta de Difusión Veterinaria*. 200:31-40.
- Messonier S. 1995. *Exotic pets: a veterinary guide for owners*. Plano, Wordware Publishing, Texas. 130 p.
- Morris J.D., Fernandez J.M., Chapa A.M., Gentry L.R., Thorn K.E. & Weick T.M. 2002. Effects of sample handling, processing, storage, and hemolysis on measurements of key energy metabolites in ovine blood. *Small Ruminant Res.* 43:157-166. <[https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(01\)00266-8](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(01)00266-8)>
- Mundim A.V., Queiroz R.P., Santos A.L.Q., Beletti M.E. & Luz, V.L.F. 1999. Bioquímica sanguínea da Tartaruga da Amazônia (*Podocnemis expansa*) em seu habitat natural. *Bios. J.* 15(2):35-43.
- Oddoze C., Lombard E. & Portugal H. 2012. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. *Clin. Biochem.* 45(6):464-469. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.01.012>>
- Oliveira Á.F.X., Raimundo J.M., Pires M.S., Amaro G.M., Guimarães A., Silva A.T., Botelho C.F.M., Machado C.H., Almeida F.Q. & Baldani C.D. 2016. Efeito do tempo e da temperatura de armazenamento na determinação de parâmetros bioquímicos séricos e plasmáticos de equinos Quarto de Milha. *Rev. Bras. Med. Vet.* 38(2):11-16.
- Oliveira F. S., Falbo M.K., Sandini I.E. & Ishiy L.E. 2011. Effect of freezing and storage time of blood serum of lambs in the determination of biochemical parameters. *Semina: Ciências Agrárias.* 32(2):717-722. <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n2p717>>
- Pahwa M. B., Menaka K., Minakshi, Manish R. & Singh V. 2015. Effect of storage time and temperature on serum clinical biochemistry analytes. *Indian J. Clin. Biochem.* 9:150-156.
- Pereira P.V.R. 2015. Perfil bioquímico sérico de jabutis *Chelonoidis carbonaria* (*Reptilia, Testudinidae*) mantidos em cativeiro. Dissertação, 84 f.
- Pereira P.V.R., Pereira S.G., Silva A.L., Monteiro E.M., Cardoso T R. & Santos A.L.Q. 2019. Blood profile for electrolytes and minerals in jabutis *Chelonoidis carbonaria* (*Reptilia, Testudinidae*) kept in captivity in the city of Uberlândia, Brazil. *Rev. Acad. Ciênc. Anim.* 17:17006 <<http://dx.doi.org/10.7213/1981-4178.2019.17006>>
- Price E.R., Jones T.T., Wallace B.P., Guglielmo C.G. 2013. Serum triglycerides and β -hydroxybutyrate predict feeding status in green turtles (*Chelonia mydas*): Evaluating single blood sample method for assessing feeding/fasting in reptiles. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 439:176-180. <<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2012.11.005>>
- Raphael B.L., Klemens M.W., Moehlmann P., Dierenfeld E. & Karesh W.B. 1994. Blood values in freeranging pancake tortoise (*Malacochersus tornieri*). *J. Zoo Wildl. Med.* 25(1):63-67.

- Rehak N.N. & Chiang B.T. 1988. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin. Chem. Balt.* 34(10): 2111-2114. <<http://dx.doi.org/3168225>>
- Rosato P.N. 2007. Estabilidade de constituintes bioquímicos frente a diferentes temperaturas e períodos de estocagem, em amostras de soro de cães hígidos. Dissertação. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 57f.
- Roskopf Junior W.J. 1982. Normal hemogram and blood chemistry values for California desert tortoises. *The Veterinary Clinics of North America. Small An. Pract.* 77(1):85-87.
- Ruau C.G., Carney P.C., Suchodolski J.S. & Steiner J.M. 2012. Estimates of biological variation in routinely measured biochemical analytes in clinically healthy dogs. *Vet. Clin. Pathol.* 41(4):541-547. <<https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2012.00473.x>>
- Salvarani P.I., Osten J.R., Morgado F. 2018. Plasma Biochemistry values in wild female hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) during nesting in Mexican coast. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 55(2):1-6. <<http://dx.doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2018.134727>>
- Samour H.J., Hawkey C.M., Pugsley S. & Ball D. 1986. Clinical and pathological findings related to malnutrition and husbandry in captive giant tortoises (*Geochelone spp.*). *Vet. Rec.* 118(11):299-302. <<https://doi.org/10.1136/vr.118.11.299>>
- Santoro M.A. 2008. Haematology and plasma chemistry of breeding olive ridley sea turtles (*Lepidochelys olivacea*). *The Veterinary Record.* <<http://dx.doi.org/10.1136/vr.161.24.818>>
- Santos A.L.Q., Malta T.S., Mundim A.V., Alves Júnior J.R.F. & Carvalho S.F.M. 2005. Blood biochemistry rates of South American River Turtle (*Podocnemis expansa*, Schweigger – 812) (TESTUDINATA) bred in captivity. *Arch. Vet. Sci.* 10(3):1-8. <<http://dx.doi.org/10.5380/avs.v10i3.5126>>
- Santos A.L.Q., Mundim A.V., Menezes L.T., Kaminishi A.P.S. Leonardo T.G. & Nascimento L.R. 2011. Proteinograma sérico de tartarugas-da-amazônia (*Podocnemis expansa*, Schweigger-1812): Testudines, Podocnemididae. *PubVet.* 5(16):104.
- Santos S.A. 1997. Dieta e nutrição de crocodilianos. Corumbá: Embrapa-CPAP.
- Secor S.M., Taylor J.R. & Grosell M. 2012. Selected regulation of gastrointestinal acid-base secretion and tissue metabolism for the diamondback water snake and Burmese python. *J. Exp. Biol.* 215:185-196. <<https://doi.org/10.1242/jeb.056218>>
- Silva É.P., Torres M.M., Cruz T.P.P.S. & Mendonça A.J. 2017. Influência da temperatura e do tempo de armazenamento sobre amostras de soro e plasma caninos na análise da enzima alanina aminotransferase (ALT). *Cienc. Anim. Bras.* 18:1-5. <<https://doi.org/10.1590/1089-6891v18e-33785>>
- Silva K.B., Viana D.C., Dourado D.F., Sousa A.L., Silva Junior J.R., Chaves D.P. & Oliveira A.S. 2013. Valores bioquímicos de jiboia (*Boa constrictor*) *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 50(6):497-498.
- Silva W.B., Soares R.M., Machado C. Freire I.M.A., Silva L.C.C.P., Moreira S.B., Goldberg D.W. & Almosny N.R.P. 2010. Bioquímica plasmática de cascavéis (*Caudisoma durissa* LINNAEUS, 1758) em cativeiro. *Ciência Rural.* 40:2510-2514. <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782010001200012>>
- Silveira M.D., Alves J.E.O. & Vieira E.M.P. 2017. Parâmetros hematológicos e bioquímicos da espécie *Iguana iguana*: Revisão de literature. <<http://dx.doi.org/10.18571/acbm.135>>
- Silvestre A.M., Lavin S. & Cuenca R. 2013. La bioquímica sanguínea en clínica de reptiles. *Consulta Difus. Vet.* 200:31-40.
- Singh M., Pandya R., Chandra S & Sharma S.K. Stability of Clinical Chemistry and Hematological Analytes in Preserved Plasma and Blood Obtained from Wistar Rats. *SJLAS*, 41(6):1-6.
- Spinelli M.O., Cruz R.J., Godoy C.M.S.C & Motta M.C. 2012. Efeito da temperatura e tempo no armazenamento de metabólitos no plasma de ratos Wistar recém desmamados. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório*, 1:317-321.
- Stockham S.L. & Scott M.A. 2011. Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária. 2 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 729 p.

- Taylor Jr., & Jacobson E.R. 1982. Hematology and serum chemistry of the gopher tortoise, *Gopherus polyphemus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, New York, v. 103a, n.2, p.275-278, 1982. <[https://doi.org/10.1016/0300-9629\(82\)90241-9](https://doi.org/10.1016/0300-9629(82)90241-9)>
- Thoresen S.I., Tverdal A., Havre G. & Morberg H. 1995. Effects of storage time and freezing temperature on clinical chemical parameters from canine serum and heparinized plasma. *Vet. Clin. Pathol.* 24(4): 129-133. <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-3511.1995.tb00954.x>>
- Thoresen S.I., Tverdal A., Havre G. & Morberg H. 1995. Effects of storage time and freezing temperature on clinical chemical parameters from canine serum and heparinized plasma. *Vet. Clin. Pathol.* 24(4):129-133. <<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.1995.tb00954.x>>
- Thrall M.A., Weiser G., Allison R.W. & Campbell T.W. 2015. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. 2 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 762 p.
- Vieira D.S., Rodrigues T.C.S., Miranda R.L., Cardoso G.F., Guimarães E.C., Brites V.L.C. & Mundim A.V. 2015. Determinação das concentrações plasmáticas de proteínas e metabólitos de cascavéis em cativeiro. *Pesq. Vet. Bras.* 34(1):39-42. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2014001300008>>
- Whiting S.D., Guinea M.L., Limpus C.J. & Fomiatti K. 2007. Blood chemistry reference values for two ecologically distinct populations of foraging green turtles, Eastern Indian ocean. *Comp. Clin. Pathol.* 16:109-118. <<https://doi.org/10.1007/s00580-006-0646-y>>
- Wilkinson R. 2004. *Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles*, p.141. In: McArthur S., Wilkinson R. & Meyer J. Blackwell Publishing Ltd. Nova Jersey.
- Zaias J., Norton T., Fickel A., Spratt J., Altman N.H. & Cray C. 2006. Biochemical and hematologic values for 18 clinically healthy radiated tortoises (*Geochelone radiata*) on St Catherines Island, Georgia. *Vet Clin Pathol.* 35:321-325. <<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00139.x>>

Tabelas

Tabela 1. Parâmetros bioquímicos avaliados com as respectivas metodologias utilizadas para análise.

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão dos constituintes bioquímicos séricos de *Trachemys scripta elegans*, machos e fêmeas em cativeiro.

Tabela 3. Efeitos do congelamento a (-20°C) sob analitos séricos de *Trachemys scripta elegans* em diferentes momentos: T0 (análise imediata), T4 (4 dias), T8 (8 dias), T16 (16 dias), T32 (32 dias). Média e DP (desvio padrão); A/G = Relação Albumina Globulinas; Ca/P = Relação Cálcio Fósforo; ALT = Alanina aminotransferase; AST = Aspartato aminotransferase; FAL = Fosfatase alcalina; LDH = Lactato desidrogenase; GGT = Gama-glutamil transferase; CK = Creatina-fosfoquinase.

Parâmetros	Metodologias
Proteínas totais	Biureto
Albumina	Verde Bromocresol
Globulinas	Cálculo: Proteína total - Albumina
Relação Albumina:Globulinas (A:G)	Cálculo: Albumina/Globulinas
Cálcio total	Cresolftaleína Complexona - CPC
Fósforo	Daly e Ertingshausen Modificado
Relação Ca:P	Cálculo: Cálcio/Fósforo
Cálcio ionizado	Conforme recomendações do kit
Ferro	Goodwin Modificado
Magnésio	Magon Sulfonado
Glicose	Enzimático Colorimétrico
Colesterol	Enzimático-Trinder
Triglicérides	Enzimático-Trinder
Ácido úrico	Enzimático-Trinder
Uréia	Cinético Enzimático-UV
Creatinina	Jaffé-Modificado
Amilase	Cinético CNPG
Alanina aminotransferase (ALT)	Cinético UV-IFCC
Aspartato aminotransferase (AST)	Cinético UV-IFCC
Fosfatase alcalina (FAL)	Bowers Y McComb Modificado
Lactato desidrogenase (LDH)	Cinético UV-IFCC
Gama-glutamil transferase (GGT)	Szasz Modificado
Creatina-fosfoquinase (CK)	Cinético UV-IFCC

	Macho (n=15)	Fêmea (n=15)	Geral (n=30)
Parâmetros bioquímicos	Médias ± DP		
Proteínas totais (g/dL)	4,82 ± 1,13a	4,34 ± 0,81a	4,58 ± 0,99
Albumina (g/dL)	1,47 ± 0,28a	1,44 ± 0,26a	1,46 ± 0,26
Globulinas (g/dL)	3,35 ± 1,07a	2,89 ± 0,72a	3,12 ± 0,92
Relação A:G	0,48 ± 0,22a	0,51 ± 0,14a	0,50 ± 0,18
Cálcio total (mg/dL)	9,58 ± 1,26b	16,71 ± 1,95a	13,15 ± 3,97
Fósforo (mg/dL)	3,85 ± 1,77a	4,76 ± 1,32a	4,31 ± 1,60
Relação Ca:P	2,75 ± 0,70b	3,68 ± 0,87a	3,22 ± 0,91
Cálcio ionizado (mg/dL)	4,87 ± 0,79b	8,97 ± 1,33a	6,92 ± 2,34
Ferro (µ/dL)	105,73 ± 37,20a	115,46 ± 50,11a	110,60 ± 43,65
Magnésio (mg/dL)	3,52 ± 0,22a	3,53 ± 0,34a	3,52 ± 0,28
Glicose (mg/dL)	43,26 ± 15,46a	48,47 ± 37,19a	45,87 ± 28,11
Colesterol (mg/dL)	92,00 ± 30,05b	185,65 ± 70,08a	138,82 ± 71,24
Triglicérides (mg/dL)	180,81 ± 117,33b	795,78 ± 356,49a	488,30 ± 407,19
Ácido Úrico (mg/dL)	0,69 ± 0,25a	0,58 ± 0,39a	0,63 ± 0,32
Uréia (mg/dL)	54,95 ± 18,54a	76,26 ± 36,09a	65,61 ± 30,20
Creatinina (mg/dL)	0,43 ± 0,20b	0,73 ± 0,39a	0,58 ± 0,34
Amilase (U/L)	395,51 ± 192,40a	345,02 ± 184,94a	370,27 ± 187,19
ALT (UI/L)	27,73 ± 18,59a	18,40 ± 6,29a	23,06 ± 14,44
AST (UI/L)	415,40 ± 190,22a	161,73 ± 55,61b	288,56 ± 188,68
FAL (UI/L)	232,90 ± 93,72a	183,75 ± 88,69a	208,32 ± 93,07
LDH (UI/L)	2591,20 ± 1336,95a	1319,40 ± 590,17b	1955,30 ± 1203,89
GGT (UI/L)	13,42 ± 7,48a	12,45 ± 8,07a	12,94 ± 7,66
CK (UI/L)	2092,45 ± 1586,95a	1397,61 ± 720,17a	1745,03 ± 1261,36

Médias nas linhas seguidas por letras distintas, são estatisticamente diferentes (p<0,05)

	T0	T4	T8	T16	T32
Analito	Média ± DP				
<i>Proteínas totais</i>	4,58 ± 0,99ab	4,67 ± 1,15 ab	5,44 ± 1,24a	3,72 ± 0,87b	4,21 ± 0,81b
<i>Albumina</i>	1,46 ± 0,26b	1,43 ± 0,24b	1,49 ± 0,25ab	1,60 ± 0,26a	1,56 ± 0,20a
<i>Globulinas</i>	3,12 ± 0,92a	3,23 ± 1,15a	3,94 ± 1,17a	2,12 ± 0,91b	2,64 ± 0,80b
<i>Relação A:G</i>	0,50 ± 0,18 bc	0,49 ± 0,20bc	0,40 ± 0,13c	0,99 ± 0,65a	0,64 ± 0,23ab
<i>Cálcio total</i>	13,15 ± 3,97a	13,62 ± 4,33a	13,67 ± 4,39a	13,70 ± 4,26a	12,67 ± 3,58a
<i>Fósforo</i>	4,31 ± 1,60 ab	4,03 ± 0,95ab	3,59 ± 0,96b	4,35 ± 1,43a	3,60 ± 1,26b
<i>Relação Ca:P</i>	3,22 ± 0,91bc	3,37 ± 0,75ab	3,81 ± 0,81a	3,25 ± 0,76bc	3,68 ± 0,95ab
<i>Cálcio ionizado</i>	6,92 ± 2,34a	7,15 ± 2,59a	6,63 ± 2,37a	7,95 ± 2,82a	6,87 ± 2,02a
<i>Ferro</i>	110,60 ± 43,65a	94,26 ± 42,93a	99,96 ± 43,44a	105,86 ± 46,14a	94,16 ± 53,18a
<i>Magnésio</i>	3,52 ± 0,28a	3,13 ± 0,32c	2,70 ± 0,32d	3,18 ± 0,33bc	3,47 ± 0,39ab
<i>Glicose</i>	45,87 ± 28,11ab	39,74 ± 11,23ab	38,75 ± 9,65ab	48,40 ± 13,96a	38,01 ± 12,39b
<i>Colesterol</i>	138,82 ± 71,24a	130,02 ± 50,46a	130,49 ± 48,10a	132,51 ± 52,75a	125,96 ± 47,43a
<i>Triglicérides</i>	488,30 ± 407,19a	502,68 ± 432,55a	480,91 ± 400,72a	455,16 ± 374,63a	451,29 ± 378,79a
<i>Ácido úrico</i>	0,63 ± 0,32 ab	0,66 ± 0,38ab	0,85 ± 0,33a	0,51 ± 0,37b	0,69 ± 0,60b
<i>Ureia</i>	65,61 ± 30,20 ab	52,73 ± 32,75b	75,57 ± 35,39a	56,39 ± 29,83ab	79,07 ± 42,03a
<i>Creatinina</i>	0,58 ± 0,34a	0,49 ± 0,20a	0,43 ± 0,23a	0,55 ± 0,40a	0,43 ± 0,26a
<i>Amilase</i>	370,27 ± 187,19b	587,09 ± 278,90a	561,25 ± 277,25a	525,95 ± 263,36ab	359,64 ± 171,96b
<i>ALT</i>	23,06 ± 14,44b	34,53 ± 19,61a	29,13 ± 16,37ab	35,50 ± 17,91a	32,13 ± 16,12ab
<i>AST</i>	288,56 ± 188,68a	195,56 ± 68,03a	116,80 ± 45,84b	84,70 ± 49,04b	184,56 ± 83,24a
<i>FAL</i>	208,32 ± 93,07a	224,94 ± 92,08a	171,00 ± 103,58a	209,10 ± 115,36a	191,98 ± 93,14a
<i>LDH</i>	1955,30 ± 1203,89ab	1858,20 ± 1263,52ab	1323,70 ± 873,79b	2217,50 ± 1801,11a	2596,53 ± 1882,22a
<i>GGT</i>	12,94 ± 7,66a	12,38 ± 7,27a	11,06 ± 5,99a	9,55 ± 5,97a	8,75 ± 5,09a
<i>CK</i>	1745,03 ± 1261,36a	581,58 ± 402,55b	553,49 ± 415,01b	657,39 ± 475,31b	1028,10 ± 783,04ab

Médias nas linhas seguidas por letras distintas, são estatisticamente diferentes (p<0,05)

ANEXOS



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: 74698-3	Data da Emissão: 24/06/2021 10:07:30	Data da Revalidação*: 01/03/2022
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, 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: Rafael Rocha de Souza	CPF: 067.397.356-54
Título do Projeto: Aspectos da hematologia e bioquímica sérica de tartarugas-de-orelha-vermelha (<i>Trachemys scripta elegans</i> ?Wied, 1839) mantidas em cativeiro	
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	Pesquisa acadêmica em nível de doutorado	10/2021	03/2023
2	Pesquisa acadêmica em nível de doutorado	07/2020	03/2022

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	André Luiz Quagliatto Santos	Orientador/Coordenador	026.476.228-95	Brasileira
2	Thais Aparecida Silva	Técnico de Laboratório/Veterinária	085.791.016-70	Brasileira

Observações e ressalvas

1	O pesquisador somente poderá realizar atividade de campo após o término do estado de emergência devido à COVID-19, assim declarado por ato de autoridade competente.
2	Esta autorização NÃO libera o uso de substância com potencial agrotóxico ou inseticida e NÃO isenta o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
3	Esta autorização NÃO libera o uso de substância com potencial agrotóxico ou inseticida e NÃO isenta o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando de violação de legislação vigente, ou quando de inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiarem a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos de legislação brasileira em vigor.
5	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 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.
6	As atividades de campo exercidas por pessoas naturais ou jurídicas estrangeiras, 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 de cultura nativa e cultura popular, presente e passado, 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.
7	O titular de licença ou autorização e os membros de 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.
8	Este documento não dispensa o cumprimento de 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/igen .

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. 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: 0746980320210624

Página 1/4



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de Ética na Utilização de Animais



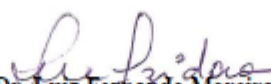
CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Aspectos da hematologia e bioquímica sérica de tartarugas-de-orelha-vermelha (*Trachemys scripta elegans* - Wied, 1839) mantidas em cativeiro”, protocolo nº 031/21, sob a responsabilidade de **Rafael Rocha de Souza** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião 24 de setembro de 2021.

(We certify that the project entitled “Aspectos da hematologia e bioquímica sérica de tartarugas-de-orelha-vermelha (*Trachemys scripta elegans* - Wied, 1839) mantidas em cativeiro” protocol 031/21, under the responsibility of **Rafael Rocha de Souza** - involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was **approved** for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of **september 24th, 2021**).

Vigência do Projeto	Início: 01/10/2021 Término: 03/03/2023
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	Réptil
Número de animais	30
Peso / Idade	2 – 2,3kg/ adultos
Sexo	Fêmea e Macho
Origem / Local	IBAMA
Local onde serão mantidos os animais:	LAPAS - UFU

Uberlândia, 24 de setembro de 2021.


Prof. Dr. Luiz Fernando Moreira Izidoro
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Comissão de Ética na Utilização de Animais
Coordenador da CEUA
Portaria R. Nº 1114/2020



Founder, 1981-2018
Jürgen Döbereiner

Jürgen Döbereiner: a life dedicated to science

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA - a Brazilian Journal of Veterinary Research <<http://www.pvb.com.br/>>, is a bilingual journal in the form of continuous publication edited by the *Colégio Brasileiro de Patologia Animal* (CBPA), in partnership with the *Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro* (UFRRJ). The Journal publishes original works of scientific contribution in broad sense pathology in the three areas: Livestock Diseases (LD), Small Animal Diseases (SA), and Wildlife Medicine (WM).

The abbreviated title of *Pesquisa Veterinária Brasileira* is *Pesq. Vet. Bras.*

In the three areas, *Pesq. Vet. Bras.* publishes Original Articles, Critical Literature Reviews and Topics of General Interest. Case Reports are accepted only in the Wildlife Medicine area, only for clinicopathological descriptions of diseases not yet reported in the scientific literature.

- ✓ The Original Papers should contain research results not yet published and not submitted to other journals.
- ✓ Literature Reviews should be critical and consist of subjects of the Author's line of research.
- ✓ Topics of General Interest should be of great importance and based on the significant experience of the authors.
- ✓ The Case Reports must be unpublished, with clinical importance, conservationist or associated with forensic medicine.

The opinions and concepts emitted are the responsibility of the authors. The Editorial Board of the Journal, assisted by the peer review, may suggest or ask for modifications in the text. The Author's rights to the accepted papers are preserved.

A maximum of eight authors can only exceed for research papers involving three or more institutions. In articles with more than eight authors, each Author's contribution must be present at the end of the manuscript.

Pesq. Vet. Bras. has been edited since 1981 and publishes subjects on natural and experimental diseases. The Journal publishes results from diagnostic investigations of animals' natural and emerging diseases, especially those affecting herds in Brazil. The submission of topics on animal diseases related to public health is encouraged. In its broad sense, Pathology is the flagship of the Journal, including laboratory diagnostic, epidemiology, clinics, and others. Manuscripts on anesthesia, surgical techniques, animal husbandry, and nutrition (except for deficiency diseases or poisonings by any element or food additives) are excluded from this Journal's publication interest. The target public of *Pesq. Vet. Bras.* are veterinary practitioners, pathologists, veterinary diagnostic laboratory staff, toxicologic pathologists, comparative pathologists, medical pathology researchers, and others involved in veterinary diagnostics and animal research across domestic and wildlife species.

The Journal is indexed and abstracted by: SciELO-Scientific Electronic Library Online (www.scielo.br/pvb); ISI/Thomson Reuters, in its products Science Citation Index Expanded and BIOSIS Previews; CABI, in its key-databases CAB Abstracts and Global Health, and several derived databases, such as Animal Science Database and VetMedResources (for the internet), Index Veterinarius and Veterinary Science Database (abstract databases), and Veterinary Bulletin (printed), DOAJ-Directory of Open Access Journals (<http://www.doaj.org>).



SUBMISSION GUIDELINES

Articles for "Pesquisa Veterinária Brasileira" (PVB) are submitted in .doc or .docx Word format, online through ScholarOne, link <<https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>>

Editors assume that submitted articles are not considered for publication in other journals and do not contain already published material. Submitted articles are peer-reviewed.

Papers will only be published in English. Authors may submit their papers in English or Portuguese (Please check **Translation Services** on the website of Pesq. Vet. Bras. <<http://www.pvb.com.br/portal/normas>>). Authors from English countries do not need to present a translation letter. To authors from other countries, a certificate of the English's quality, issued by an institution accredited by Pesq. Vet. Bras. (see the list in Language Services) is required.

All authors should register in the ORCID (Open Researcher and Contributor ID <<https://orcid.org/register>>) and link it to their ScholarONE profile. The link can be done by editing the user profile on ScholarONE in the option **Associate your existing ORCID iD**. The ORCID identifiers contribute to bibliometric processes. Using ORCID, researchers are efficiently and correctly connected with their research results, publications, and affiliations.

For the preparation of the manuscript, authors must follow the format indicated by the Journal, which can be found under "Instructions for Authors", "Submission of articles" on the journal webpage (http://www.pvb.com.br/instructions_to_authors.pdf). Submission of articles outside the presentation standards will not be considered for publication and will be immediately rejected.

Dear Author, to reduce as much as possible the evaluation time of your article, proceed by following the submission steps, as follows:

ORGANIZATION AND PREPARATION OF THE MANUSCRIPT

Papers should be prepared in all details according to the style of the Journal in order to be peer-reviewed. Tables and Figures should be submitted separately from the text.

1. Organize the article in **TITLE, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION, CONCLUSION(S)** (the last three preferably as separate chapters), **Acknowledgements, Conflict of interest statement, and REFERENCES**:

a. The **TITLE** should be concise and indicate the article's content; inform details of scientific identification in the **MATERIALS AND METHODS**.

b. Names of authors with several first and family names should be shortened, e.g., simplify Claudio Severo Lombardo de Barros to Claudio S.L. Barros or Barros C.S.L. The **Corresponding Author** should guarantee contact with the Editorial Board of PVB.

c. The **Heading of the ABSTRACT** should contain the shortened and inverted names of the authors, year, title, and the postal address of the laboratory or institution where the central part of the research was done. Compare the authors of the paper and their listing in the **Heading of the Abstract** to avoid discrepancies.

d. The **footnote of the first page** should contain the complete professional address of each Author (in the language of the Author's country, Portuguese, Spanish, English, etc.) as well as the underlined e-mail of the Corresponding Author.

e. The **ABSTRACT** should be a well-explained version of the Portuguese **RESUMO**, followed by **"INDEX TERMS"**, which should include terms of the title, as they are not only Additional Index Terms.

f. The **RESUMO** should contain (1) the title [within brackets and in bold type], (2) what has been investigated, indicating the materials and methods used, (3) the most important results, and (4) the conclusion, followed by **"TERMOS DE INDEXAÇÃO"** (which also include words of the title, as they are not only Additional Index Terms).

g. The **INTRODUCTION** must be short, with a citation of the specific literature, followed by the research's objective.

h. In **MATERIALS AND METHODS**, provide all data necessary to repeat the study.

i. In **RESULTS**, present the data obtained in a concise form.



j. In **DISCUSSION**, confront the results with the literature. Avoid mentioning research development or future planning to avoid the Journal's commitment to publish the results.

k. Base the **CONCLUSIONS** only on your results.

l. Do not mention **Acknowledgements** in the text or footnotes, but after **CONCLUSIONS**.

m. State any **conflict of interest** or "**none**" if it is the case.

n. The **REFERENCES** should include all citations presented in the text. Write the list of References in alphabetical and chronological order, in the language in which they were consulted (Portuguese, English, Spanish, German, ...), beginning with the first Author's family name, followed by all other authors of the respective reference, in high and low case letters. Each Author's name should be divided only by a comma, followed by year, title, and the publication data (unabbreviated in case of doubt about abbreviation), according to <http://www.pvb.com.br/>.

2. The style of the Journal has to be met as follows:

a. Font **Cambria** at **10 pitch**, **simple space between lines**; **page format A4**, with **2cm margins** (superior, inferior, left and right), text in one column justified. Place Figure captions below the list of References; do not repeat the captions along with the images of the Figures. Submit Figures and Tables separately.

b. **ABSTRACT** and **RESUMO** are written in only one paragraph and should not contain references.

c. The articles should be concise and, whenever possible, written in the past tense.

d. The scientific names should be presented in full (p.ex. *Palicourea marcgravii*) at the beginning of each chapter (Title, Abstract, Resumo, Introduction, etc.) when they appear for the first time, followed with the abbreviation of the genus (p.ex. *P. marcgravii*).

e. In the **Title of Tables and Figure captions**, write the scientific names in full.

f. In the text, calls to footnotes are given in Arabic numbers, in crescent order through the whole paper, without using "Insert final note" of Word. Note: Do not use spaces between numbers and their units to avoid separating them into two lines (p.ex.: 100ppm, 10mm, 50cm, 18x10cm, P<0.05. The abbreviation for the number is "n" and not "n°"; for degree Celsius "°C" and not "C").

g. **Tables and Figures** should be cited in the text with their respective numbers in **crescent order**.

h. **Abbreviations** of institutions should be put within parentheses after the institution's full name when presented for the first time.

i. **Citations of the literature in the text** are given by "author and year" (p.ex. Pierson 2021). Cite papers with two authors using both names (p.ex. Giaretta & Pimentel 2020). Cite papers with more than two authors in the text by the first Author's name followed by "et al." and the year (p.ex. Gava et al. 2019). If two articles' citation is identical, make the distinction by adding small letters after the year of publication (p.ex. Panziera 2018a, 2018b). The citation order in the text should be chronological (p.ex. Badial et al. 2017, Armien et al. 2018).

j. **Consult the full text of all cited articles**; if not possible, cite the original reference in the manuscript text as, p.ex., Bancroft (1921); and then, in the List of References, it should appear as Bancroft 1921. title. ... Journal ... (Apud Suvarna & Layton 2013). Also, include this in-full-consulted reference in the List of References.

k. The use of "personal communication" and "unpublished data" should be exceptional and cited in the text as Author and Year (Barbosa 2016) and the List of References: Barbosa 2016. Personal Communication (Universidade Federal do Pará, campus Castanhal, Brazil).

l. **Figure captions** (p.ex. "Fig.3.") should be sufficiently informative for understanding (because Figures are independent of the text).

m. **Title of Tables** should be written in **bold**, and the **Heading** (titles of the columns) should be in clear (not bold), written in high and low case letters, and separated by two long horizontal lines. There are no vertical lines and no gray bottom; exceptionally, horizontal lines can exist. The calls for footnotes should be in small letters or other signs but not in Arabic numbers. Tables should be submitted in .doc or .docx Word format (not as images) to allow corrections according to the Journal's style.

n. Submit complex data as **graphics** (should be referred to as **Figures**) in 2D without gray bottom and horizontal lines. Write graphics, including text, with Cambria at 10 pitch.

3. Figure presentation:

a. **Format and dimension**. Images must be in TIF format, RGB channel, 85mm long, and 300 dpi resolution (pixel/inch) for color figures and 600 dpi (pixel/inch) for black & white figures (graphics and maps).

b. **Numbering**. The figures must be named separately and identified only by numbers in the order they are cited in the text (Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, etc.). To identify the figures, do not use letters (Fig. 1A, 1B, 1C, etc.).

c. **Identification of structures**. If it is necessary to highlight specific structures within the image, use font "Cambria 8 points", black or white, or black or white arrows depending on the figure's background.



Colégio Brasileiro de
Patologia Animal

d. Grouping of figures. Figures can be grouped on boards. Make sure all figures are named sequentially. All figures that will compose the board must be sent separately and, preferably, have the exact dimensions. If necessary, a sketch with the layout can be suggested. However, the final grouping will be done by the image editor.

e. Micrographs. Scale bars are not mandatory.

f. Subtitles. Each figure must have a self-explanatory legend. It should describe what is seen in the image and explain any abbreviations or symbols used. Example of caption format:

"Fig.1. Description of the image. Diagnosis, organ or tissue, animal species, case number. Histochemical staining method (HE, PAS, etc.) or immunohistochemical (S100, Ki67, Vimentin, etc.)."

When describing immunohistochemistry results, use the term "immunolabeling" instead of "staining" or "positive." Indicate where "immunolabeling" occurred (nuclear, cytoplasmic, and membranous) and to what extent. Finally, the objective lens used in micrographs must be indicated (obj.10x, obj.20x, obj.40x, etc.). Figures legend must appear in the main manuscript file, after the References.

4. All references cited in the text should be included in the List of References. Before submitting the paper, discrepancies have to be corrected by the Author. The system ScholarOne blocks automatically if such disparities exist.

5. Examples for References:

Articles published in scientific journals

- Groch K.R., Díaz-Delgado J., Santos-Neto E.B., Ikeda J.M.P., Carvalho R.R., Oliveira R.B., Guari E.B., Flach L., Sierra E., Godinho A.I., Fernández A., Keid L.B., Soares R.M., Kanamura C.T., Favero C., Ferreira-Machado E., Sacristán C., Porter B.F., Bisi T.L., Azevedo A.F., Lailson-Brito J. & Catão-Dias J.L. 2020. The pathology of cetacean morbillivirus infection and comorbidities in guiana dolphins during an unusual mortality event (Brazil, 2017-2018). *Vet. Pathol.* 57(6):845-857. <<https://dx.doi.org/10.1177/0300985820954550>> <PMid:32964811>
- Molossi F.A., Cecco B.S., Pohl C.B., Borges R.B., Sonne L., Pavarini S.P. & Driemeier D. 2021. Causes of death in beef cattle in southern Brazil. *J. Vet. Diagn. Invest.* 33(4):677-683. <<https://dx.doi.org/10.1177/10406387211007952>> <PMid:33834923>
- Bertolini M., Schwertz C.L., Vielmo A., Piva M.M., Bilhalva L.C., Pavarini S.P., Driemeier D. & Sonne S. 2021. Pathological and microbiological findings in fatal cases of salmonellosis in captive *Bothrops* snakes in southern Brazil. *J. Comp. Pathol.* 186:7-12. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2021.04.011>>
- (Note: The first letters of the words in the title of papers published in journals are small. It is preferable to indicate the number of the respective issue.)

Books

- Marsh P. & Martin M. 1992. *Oral Microbiology*. 3rd ed. Chapman and Hall, London, p.167-196.
- Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. *Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção*. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro, p.305-348.
- (Note: The First Letter in the Words of the Title of Books Should be Capital.)

Chapters of books

- Uzal F.A., Plattner B.L. & Hostetter J.M. 2016. Alimentary system, p.1-257. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals. Vol.2. 6th ed. Elsevier, St Louis, Missouri.
- Barros C.S.L. 2007. Doenças víricas: leucose bovina, p.159-169. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), *Doenças de Ruminantes e Equídeos*. Vol.1. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria, RS.
- Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas que afetam o funcionamento do coração, p.27-94. In: Ibid. (Eds), *Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção*. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro.

Dissertations and Theses

- Rech R.R. 2007. Alterações no encéfalo de bovinos submetidos à vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 228p.
- (Note: Use articles that originated from dissertations or theses instead of these).



Abstracts published in Events

Massa A.T., Potter K.A. & Bradway D. 2016. Epizootic bovine abortion outbreak in Eastern Nevada cattle. Annual Meeting American College of Veterinary Pathologists (ACVP), New Orleans, Louisiana. (Abstract D-50)

Mendonça F.S., Almeida V.M., Albuquerque R.F., Chaves H.A.S., Silva Filho G.B., Braga T.C., Lemos B.O. & Riet Correa F. 2016. Paralisia laringea associada à deficiência de cobre em caprinos no semiárido de Pernambuco (IX Endivet, Salvador, BA). *Pesq. Vet. Bras.* 36(Supl.2):50-51. (Resumo)

Pierezan F., Lemos R.A.A., Rech R.R., Rissi D.R., Kommers G.D., Cortada V.C.L.M., Mori A.E. & Barros C.S.L. 2007. Raiva em equinos. *Anais XIII Encontro Nacional de Patologia Veterinária, Campo Grande, MS*, p.145-146. (Resumo)

(Note: If available, look for the full articles instead of just the abstract).

PUBLICATION FEE

After communicating the acceptance for the article, the Author will be asked to pay the publication fee.

For foreign authors: The corresponding Author must pay a Word Charge of \$0.16 (sixteen US cents) per word of the submitted manuscript (except for the list of references). Publishing up to 4 photos will not be charged. Each additional photo will cost \$10.00 (ten US dollars). When photos are organized on boards, each photo will count individually for payment purposes.

For Brazilian authors: The corresponding Author must pay a Word Charge of R\$ 0.50 (Brazilian reais, fifty cents per word) for the submitted manuscript (except for the list of references) in English. Publishing up to 4 photos will not be charged. Each additional image will cost R\$ 50.00 (Brazilian reais, fifty reais per photo). Even when photos are organized on boards, for payment purposes, each photo will count individually. Brazilian authors who submit manuscripts in English will be responsible for translating and sending a letter from a professional translation company.

After acceptance, authors have four months to pay the publication fee.

LANGUAGE SERVICES

All articles are published in English to increase international visibility and improve the impact factor of the *Pesquisa Veterinária Brasileira*.

PVB accepts submission of articles in English or Portuguese. However, articles submitted in Portuguese, if accepted, must be translated into English before publication.

An English language certificate provided by an accredited editing service may be required to prove the quality of English. Authors from English countries do not need to present a translation letter. Editing services accepted by *Pesquisa Veterinária Brasileira* are listed below:

- Academic Proofreading and Editing Services
- American Journal Experts - AJE Manuscript Services
- American Manuscript Editors
- Bioedit Scientific Editing
- Editage/Cactus Communications
- Editora Elsevier
- ENAGO Revisão de inglês acadêmico para pesquisadores brasileiros
- International Science Editing Compuscript Ltd. T/A International Science Editing
- Proof Reading Service
- Traduvet - Traduções na área de Medicina Veterinária | traduvet@gmail.com
- Wiley Editing Services