

**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**

Thaís Torres Pires¹, Gonzalo Rostan¹ e José Eugênio Guimarães²

1- Projeto Tamar-Ibama* – Av. Farol Garcia D'Ávila, s/n, Praia do Forte, Mata de São João/BA – Brasil,

2- Departamento de Patologia e Clínicas – Hospital de Medicina Veterinária – Escola de Medicina Veterinária/UFBA, Salvador/BA - Brasil .

* O Projeto TAMAR é um programa do IBAMA, coadministrado pela Fundação Pro-TAMAR e tem como patrocinador oficial a Petrobrás.

Thaís Pires; Thais.vet@tamar.org.br

Endereço: Cx. Postal 2219 Rio Vermelho, CEP: 40223-970 – Salvador - Ba.

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

HEMATOLOGIC EXAMINATION AND TOTAL PROTEIN TEST VALUES OF SEA TURTLES OF SPECIES *Caretta caretta* (LINNAEUS, 1758), IN CAPTIVITY, FROM PRAIA DO FORTE, MATA DE SÃO JOÃO-BAHIA

INTRODUÇÃO

A avaliação hematológica é de grande valor na investigação de doenças em répteis, assim como possivelmente pode mostrar alterações fisiológicas entre animais de vida livre e aqueles criados em cativeiro (DIVERS et al., 1996). Contudo, são poucas as informações de valores sanguíneos para as tartarugas marinhas onde a maior parte dos estudos apresenta um número reduzido de parâmetros bioquímicos baseados em uma pequena quantidade de amostras de animais em cativeiro ou de histórico desconhecido (BOLTEN & BJORN DAL, 1992).

Fatores como idade, tamanho, sexo, estação do ano, saúde, habitat e dieta podem afetar os parâmetros hematológicos, tanto em tartarugas marinhas como em répteis de maneira geral, dificultando o estabelecimento de valores sanguíneos de referência e comparações entre indivíduos e populações (FRAIR, 1977b; WOOD & EBANKS, 1984; GOTTDENKER & JACOBSON, 1995). Embora a literatura apresente alguns trabalhos publicados sobre valores hematológicos para estes animais, é difícil o uso dessas informações em estudos comparativos, devido aos métodos de coleta e manipulação das amostras, processamento das mesmas e dos diferentes métodos empregados na análise bioquímica, que variam muito entre esses trabalhos (BOLTEN et al., 1992). Além disso, as descrições das características morfológicas de células sanguíneas de quelônios marinhos são limitadas (WORK et al, 1998).

Com a necessidade crescente de avaliação do estado de saúde em tartarugas marinhas, para ser possível a manutenção de animais saudáveis em cativeiro e para reabilitação de indivíduos de vida livre, se faz necessário um maior empenho com estudos relacionados aos meios de diagnósticos, onde a avaliação hematológica possui grande destaque.

O presente trabalho propõe a realização do hemograma e determinação da proteína plasmática total em tartarugas marinhas da espécie *Caretta caretta* criadas em cativeiro, obtendo-se assim valores médios dos

constituintes que compõem o eritrograma, leucograma, assim como de trombócitos e dessa proteína, que possam posteriormente ser utilizados como dados auxiliares para o diagnóstico clínico desses animais. Ressalta-se aqui a importância desses valores hematológicos no tratamento de animais de vida livre, que por se tratar de uma espécie vulnerável à extinção, a reintrodução na natureza desses indivíduos comprovadamente saudáveis, através dessa avaliação, é de grande valor para os projetos de conservação. Portanto, torna-se imprescindível a realização de pesquisas que visem a determinação de valores hematológicos considerados normais para essa espécie no Brasil, especificamente na Bahia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas amostras de oito tartarugas marinhas da espécie *Caretta caretta*, clinicamente saudáveis, provenientes do Projeto TAMAR-Ibama, Centro de visitantes da base de Praia do Forte, Município de Mata de São João - Bahia, sendo deste total, sete fêmeas e um macho, mantidos em viveiros desde o nascimento. A média de peso dos animais foi de 114,4 Kg e o comprimento curvo de casco de 93,6 cm, enquanto que a idade variou entre 12 e 16 anos.

Cinco mililitros de sangue de cada animal foram coletados no seio cervical dorsal por ser considerado superior aos outros procedimentos para colheita de sangue em tartarugas marinhas, reduzindo o estresse e o risco de danos permanentes, sendo a contenção dos animais realizada de acordo com as recomendações de OWENS & RUIZ (1980).

As amostras foram acondicionadas em tubos de ensaio contendo heparina, anticoagulante de escolha para as avaliações hematológicas em quelônios (PAGE & MAUTINO, 1990; BOLTEN et al., 1992; KNOTKOVA, 2002). O material biológico colhido foi enviado e processado no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital de Medicina Veterinária da Escola de Medicina Veterinária da UFBA, onde o volume globular foi determinado em tubos microcapilares, segundo a técnica descrita por JAIN (1986), enquanto que os valores de concentração de hemoglobina foram obtidos pelo método de cianometahemoglobina, através de kit comercial. As contagens de eritrócitos e leucócitos foram realizadas manualmente em Câmara de Neubauer tendo como diluente a solução de Natt e Herrick. A contagem diferencial de leucócitos e a determinação do número de trombócitos foram estabelecidas em esfregaços sanguíneos confeccionados no momento da colheita das amostras sendo coradas pelo método panótico, segundo a técnica de Rosenfeld, descrita por BIRGEL et al. (1983). A determinação da proteína plasmática total foi realizada por refratometria. Através das variáveis do eritrograma estabeleceu-se matematicamente os índices hematimétricos: volume globular médio (VGM), hemoglobina globular média

(HGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM), expressos em fentolitro (fl), picograma (pg) e porcentagem (%), respectivamente.

Devido ao número reduzido de amostras, foram calculadas médias, desvio padrão, valor mínimo e máximo e mediana de todas variáveis analisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios, desvios-padrão, valores máximo e mínimo e a mediana das variáveis do hemograma e da proteína plasmática total encontram-se na tabela 01.

Tabela 01: Média, desvio padrão, valor máximo, valor mínimo, mediana dos valores hematológicos e de proteína plasmática total de tartarugas marinhas da espécie *Caretta caretta* (n = 8), criadas em cativeiro, Salvador – BA. 2003.

Parâmetro Hematológico	Média	Desvio Padrão	Valor Máximo	Valor Mínimo	Mediana
Volume Globular (%)	33,12	2,35	37	29	33
Hemoglobina (g/dl)	8,65	0,80	10,32	7,7	8,56
Número de Hemácias (µl)	275.000	28.030,59	315.000	240.000	272.500
Volume Globular Médio (fl)	1.214,36	131,99	1.333,33	920,63	1.247,64
Hemoglobina Globular Média (pg)	317,12	38,66	357,20	244,44	322,29
Concentração de Hemoglobina Globular Média (%)	26,10	1,21	27,89	24,08	26,28
Número de Leucócitos Totais (µl)	3.656	963,04	5.250	2.000	3.500
Heterófilos (%)	59,38	16,27	85	40	56
Heterófilos (µl)	2.156,87	703,49	2.790	960	2.368,75
Eosinófilos (%)	10,38	6,32	23	3	11
Eosinófilos (µl)	366,88	216,44	747,50	97,50	385
Basófilos (%)	0,13	0,35	1	0	0
Basófilos (µl)	2,50	7,07	20	0	0
Linfócitos (%)	29,25	17,12	51	10	29,5
Linfócitos (µl)	1.110,94	783,61	2.205	350	915
Monócitos (%)	0,88	2,10	6	0	0
Monócitos (µl)	19,06	42,34	120	0	0
Número de Trombócitos (µl)	10.968,13	3.109,19	15.555	8.120	9.545
Proteína Total (g/dl)	6,5	0,83	8,0	5,6	6,5

Ao se analisar os resultados obtidos para a variável volume globular, em tartarugas cabeçudas, constatou-se que estes estão de acordo com a literatura consultada. O valor médio encontrado neste estudo foi de 33,12% ($\pm 2,35$), sendo que LUTZ & DUNBARCOOPER (1987) determinaram uma média de 35,4%, para animais desta mesma espécie. Já, para a tartaruga verde (*Chelonia mydas*), BOLTEN & BJORN DAL (1992) e AGUIRRE et al. (1995) obtiveram valores de 35,2% e 31,2% para essa variável, respectivamente. Entretanto, estes valores são inferiores àqueles obtidos por WOOD & EBANKS (1984) que encontraram valores de 45%, esses autores verificaram ainda, não haver diferença significativa entre sexos para valores desta variável, e que os mesmos parecem aumentar com a idade. Além disso, há que se ressaltar que fatores como dieta, saúde, exercício, hormônio circulante, temperatura e estresse podem afetar o VG de tartarugas mantidas em cativeiro. Desataque-

se também que algumas doenças como infecções do plastrão, hemorragias prolongadas, deficiências nutricionais ou inanição, podem ser relacionadas à sua diminuição, atingindo nestes casos, valores abaixo de 20% (FRAIR, 1977a).

A concentração de hemoglobina apresentou valor médio de 8,65 g/dl ($\pm 0,80$), valor semelhante ao obtido por AGUIRRE et al (1995) de 8,54 g/dl, que trabalharam com a tartaruga verde. Mas, foi inferior ao encontrado por WOOD & EBANKS (1984) de 10,6 g/dl que utilizaram também a espécie *Chelonia mydas*.

A média da contagem de eritrócitos encontrada neste trabalho foi de 275.000/ μ l ($\pm 28.030,59$), sendo inferior aquela alcançada por WHITAKER & KRUM (1996) de 390.000/ μ l, o que pode ser justificado pela pouca idade dos animais avaliados por estes autores. Este fato também foi obtido por WOOD & EBANKS (1984) e AGUIRRE et al. (1995) que citam valores de 341.000/ μ l e 480.000/ μ l respectivamente, contudo a espécie em estudo foi a *Chelonia mydas*, possivelmente em condições alimentares de manejo diferentes às empregadas nesta pesquisa.

Os cálculos dos índices hematimétricos volume globular médio (VGM) e hemoglobina globular média (HGM) mostraram discrepâncias ao serem comparados aos obtidos por AGUIRRE et al (1995) para a *Chelonia mydas*. Valores de 725 fl ($\pm 131,99$) e 198,18 pg ($\pm 38,66$), foram obtidos neste trabalho, enquanto que aqueles obtiveram um VGM de 1.214,36 fl e HGM de 317,12 pg, respectivamente. Já, o valor da concentração de hemoglobina globular média (CHGM) de 26,10% ($\pm 1,21$) foi bem próximo ao encontrado por esses autores, de 27,50%.

O valor médio do número de trombócitos (Fig. 01) de 10.968,13/ μ l ($\pm 3.109,19$) foi bem parecido àquele obtido por WOOD & EBANKS (1984) de 11.520/ μ l, para tartaruga verde. Estes autores citam que a variável parece não ter correlação com idade ou sexo.

A contagem total de leucócitos, de 3.656/ μ l ($\pm 963,04$) se diferenciou da média observada na literatura consultada, onde WOOD & EBANKS (1984) demonstraram valores de 32.000/ μ l e AGUIRRE et al (1995) de 9.340/ μ l, porém para a tartaruga verde. Outro ponto a ser lembrado é que a população em estudo neste trabalho é composta principalmente por fêmeas, que devido à presença de hormônios, como a gonodotrofina e esteróides sexuais, normalmente apresentam contagens inferiores às do macho, segundo (WOOD & EBANKS, 1984). A contagem diferencial de leucócitos, com os seguintes valores relativos: heterófilos (Fig. 02) 59,37% ($\pm 16,27$), eosinófilos (Fig. 03) 10,38% ($\pm 6,32$), basófilos 0,13% ($\pm 0,35$), linfócitos (Fig. 04) 29,25% ($\pm 17,12$), monócitos (Fig. 05) 0,88% ($\pm 2,10$), mostrou-se em desacordo com a literatura citada, porém mesmo entre os autores citados há valores distintos entre si, possivelmente devido à grande variação entre indivíduos da mesma faixa

etária (WOOD & EBANKS, 1984), à dificuldade de classificação dos leucócitos, que possuem morfologia variável, entre os répteis em geral (KNOTKAVA, et al, 2002), além da difícil diferenciação entre linfócitos e trombócitos (ALLEMAN et al, 1992; WORK et al, 1998).

A determinação da proteína plasmática total, com média de 6,5 g/dl ($\pm 0,83$) é relativamente alta quando comparada àquela obtida por BOLTEN & JACOBSON (1992), em trabalho realizado com a espécie *Caretta caretta*, e AGUIRRE et al (1995), assim como para a espécie *Chelonia mydas*, de 4,1 e 4,32 g/dl, respectivamente. Essa diferença pode ter sido causada pelos métodos utilizados, já que os primeiros autores realizaram a técnica de auto análise, enquanto que neste trabalho foi a da refratometria.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos conclui-se que dos parâmetros avaliados neste trabalho o volume globular, a concentração de hemoglobina, a concentração de hemoglobina globular média (CHGM) e o número de trombócitos, não divergiram de grande parte da literatura consultada. Enquanto que os valores da contagem de eritrócitos, volume globular médio (VGM) e hemoglobina globular média (HGM) foram inferiores aos obtidos pelos autores consultados. As contagens total e diferencial de leucócitos variaram bastante em relação a literatura consultada. A determinação da proteína plasmática total teve um valor superior àqueles citados pela literatura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGUIRRE, A. A.; BALAZS, G. H.; SPRAKOR, T. R.; GROSS, T. S. Adrenal and hematological responses to stress in juvenile green turtles, *Chelonia mydas*, with and without fibropapillomas. **Physiological Zoology**, v. 68, n. 5, p. 831 - 854, 1995.
2. ALLEMAN, A. R.; JACOBSON, E. R.; RASKIN, R. E. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from desert tortoise (*Gopherus agassizii*). **American Journal of Veterinary Research**, v.53, n. 9, p. 1645 - 1651, 1992.
3. BIRGEL, E. H.; LARSSON, M. H. A.; HAGIWARA, M. K.; VASCONSELOS, S. A.; LARSSON, C. E.; OGASSAWARA, S. BENESI, F. J. **Patologia clínica veterinária**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1983. 260p.
4. BOLTEN, A. B.; BJORNDAL, K. A. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 28, n. 3, p. 407 - 413, 1992.
5. BOLTEN, A. B.; JACOBSON, E. R.; BJORNDAL, K. A. Effects of anticoagulant and autoanalyzer on blood biochemical values of loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 12, p. 2224 - 2227, 1992.
6. CAMPBELL, T. W. Clinical pathology. In: MADER, D. R. **Reptile Medicine and Surgery**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1996. p. 248 - 257.

7. DIVERS, S. J.; REDMAYNE, G.; AVES, K. Haematological and biochemical of 10 green iguanas (*Iguana iguana*). **The Veterinary Record**, v. 138, n. 3, p. 203 - 205, 1996.
8. FRAIR, W. Turtles red blood cell packed volumes, sizes, and numbers. **Herpetologica**, v. 33, n.2, p. 167 - 190, 1977.
9. _____. Sea turtle red blood cell parameters correlated with carapace lengths. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 56A, n. 4, p. 467 - 472, 1977b.
10. FRAIR, W.; SHAH, B. K.. Sea turtle blood serum protein correlations with carapace lengths. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 73A, n. 3, p. 337 - 339, 1982.
11. GOTTDENKER, N. L.; JACOBSON, E. R. Effect of venipuncture sites on hematological and clinical biochemical values in desert tortoises (*Gopherus agassizii*). **American Journal of Veterinary Research**, v.56, n. 1, p. 19 - 21, 1995.
12. JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 4 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.
13. KNOTKAVA, Z.; DOUBEK, J.; KNOTEK, Z.; HAJKOVA, P. Blood cell morphology and plasma biochemistry in Russian tortoises (*Agrynemys harsfieldi*). **Acta Vet. B.R.N.O.**, v. 71, n. 2, p. 191 - 198, 2002.
14. LUTZ, P. L.; DUNBAR-COOPER, A. Variations in the blood chemistry of the loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*. **Fishery Bulletin**, v. 85, n. 1, p. 37 - 43, 1987.
15. OWENS, D. W.; RUIZ G. J. New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. **Herpetologica**, v. 36, n.1, p.17 - 20, 1980.
16. PAGE, C. D.; MAUTINO, M. Clinical management of tortoise. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 12, n. 2, p. 221 - 228, 1990.
17. WHITAKER, B. R.; KRUM, H. Medical management of sea turtles in aquaria. In: FOWLER, M. E.; MILLER, R. E. **Zoo & Wild animal medicine**. v.4. Filadelfia: W. B. Saunders Company, 1999. p. 217 - 231.
18. WOOD, F. E.; EBANKS, G. Blood cytology and hematology of the green sea turtle, *Chelonia mydas*. **Herpetologica**, v. 40, n.3, p.331 - 336, 1984.
19. WORK, T. M.; RASKIN R. E.; BALAZS, G. H.; WHITTAKER, S. D. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from Hawaiian green turtles. **American Journal of Veterinary Research**, v.59, n. 10, p. 1252 - 1257, 1998.

RESUMO

Com objetivo de obter valores dos parâmetros do hemograma e de proteína plasmática total, de tartarugas marinhas da espécie *Caretta caretta* criadas em cativeiro, foram coletados cinco mililitros de sangue através de venipunção do seio cervical dorsal de oito animais daquela espécie, sendo utilizado como anticoagulante a heparina. Os achados hematológicos mostraram valores médios de eritrócitos de 275.000/ μ l ($\pm$ 28.030,59), volume globular de 33,12% ($\pm$ 2,35), concentração de hemoglobina de 8,65 g/dl ($\pm$ 0,80), enquanto que os índices hematimétricos encontrados foram de 725 fl ($\pm$ 131,99) para volume globular médio (VGM), 198,18 pg ($\pm$ 38,66) para hemoglobina globular média (HGM) e de 26,10% ($\pm$ 1,21) para concentração de hemoglobina globular média (CHGM). No leucograma a média do número total de leucócito foi de 3.656/ μ l ($\pm$ 963,04), e os valores médios relativos da contagem diferencial de leucócitos foram de 59,38% ($\pm$ 16,27) para heterófilos, 10,38% ($\pm$ 6,32) para eosinófilos, 0,13% ($\pm$ 0,35) para basófilos, 29,25% ($\pm$ 17,12) para linfócitos e 0,88% ($\pm$ 2,10) para monócitos, sendo os valores absolutos de 2.156,87/ μ l ($\pm$ 703,49); 366,88/ μ l ($\pm$ 216,44); 2,50/ μ l ($\pm$ 7,07); 1.110,94/ μ l ($\pm$ 783,61) e 19,06/ μ l ($\pm$ 42,34), respectivamente. O valor médio de trombócitos encontrado foi igual a 10.968,13/ μ l ($\pm$ 3.109,19) e a determinação de proteína total teve uma média de 6,5 g/dl ($\pm$ 0,83). Das variáveis analisadas, a contagem de eritrócitos, o volume globular médio, a hemoglobina globular média e as contagens total e diferencial de leucócitos apresentaram valores diferentes para a espécie em questão, quando comparadas com a literatura consultada.

UNITERMOS: hemograma, proteína plasmática total, tartaruga marinha, cabeça.

ABSTRACT

With the purpose in obtaining measurable parameters of hematologic examination and total protein test values of eight sea turtles of species *Caretta caretta* in captivity, 5mL of blood were collected from dorsal cervical sinus using heparin as anticoagulant. The results showed average amounts of erythrocytes of 275.000/ μ l ($\pm$ 28.030,59), packed cell volume of 33,12% ($\pm$ 2,35), hemoglobin concentration of 8,65 g/dl ($\pm$ 0,80), while the erythrocytic indexes were 725 fl ($\pm$ 131,99) for mean corpuscular volume (MCV), 198,18 pg ($\pm$ 38,66) for mean corpuscular hemoglobin (MCH) and 26,10% ($\pm$ 1,21) for mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC). The leukocyte response showed an average of WBC counting of 3.656/ μ l ($\pm$ 963,04), and the average numbers relating to the leukocyte count were 59,38% ($\pm$ 16,27) for heterophils, 10,38% ($\pm$ 6,32) for eosinophils, 0,13% ($\pm$ 0,35) for basophils, 29,25% ($\pm$ 17,12) for lymphocytes and 0,88% ($\pm$ 2,10) for monocytes, being those absolute values of 2.156,87/ μ l ($\pm$ 703,49); 366,88/ μ l ($\pm$ 216,44); 2,50/ μ l ($\pm$ 7,07); 1.110,94/ μ l ($\pm$ 783,61) e 19,06/ μ l ($\pm$ 42,34), respectively. The average amount of trombocytes found equaled 10.968,13/ μ l ($\pm$ 3.109,19) and the total protein finding of an average 6,5 g/dl ($\pm$ 0,83). Of all variables analyzed, the erythrocytes count, the mean corpuscular volume, the mean corpuscular hemoglobin and all leukocyte counts presented different values for the relevant species when compared to published literature.

KEY WORDS: hematologic examination, total protein test, sea turtles, loggerhead.