

Estudio comparativo de valores hematológicos de serpientes de cascavel (*Crotalus durissus terrificus*) de vida libre y de cautiverio

Rubens Igor de Andrade Alves ¹

Gustavo Claudiano da Silva ²

Silas Fernandes Eto ²

Wilson Gómez Manrique ²

Bruna Agy Loureiro ³

Renata Alfredo ¹

Julieta Rodini Engracia de Moraes ²

Rogério Salvador ¹

Flávio Ruas de Moraes ^{2*}

¹ Departamento de Patologia Animal, Universidade Estadual do Norte do Paraná
Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes – PR, Brasil

² Departamento de Patologia Animal, Universidade Estadual Paulista
CEP 14884-900, Jaboticabal – SP, Brasil

³ Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP, Brasil

* Autor para correspondência
fruasmoares@gmail.com

Submetido em 10/07/2013
Aceito para publicação em 06/02/2014

Resumo

Estudo comparativo dos valores hematológicos da cascavel (*Crotalus durissus terrificus*) de vida livre e de cativeiro. Com o objetivo de avaliar fatores intrínsecos e extrínsecos que afetam o perfil hematológico de serpentes de cascavel sob diferentes condições, seis serpentes foram divididas em dois grupos, um em condições de vida livre (Grupo S) e outro com animais de cativeiro (Grupo C). Determinou-se o valor médio da contagem de eritrócitos, taxa de hemoglobina (VC), hematócrito, proteína plasmática total (PPT), volume corpuscular medio (VCM), concentração da hemoglobina corpuscular media (CHCM) e distribuição percentual de leucócitos. Os leucócitos foram identificados e caracterizados morfológicamente. No eritrograma, observou-se aumento significativo no número de eritrócitos no grupo S, e aumento do VCM no grupo C. Em relação ao leucograma, observou-se que os heterófilos e monócitos azurófilos foram as células sanguíneas de defesa orgânica mais frequentes nos frotis sanguíneos enquanto no grupo S observou-se diminuição do número de leucócitos totais, refletindo menor número de monócitos azurófilos em relação ao grupo C. Estes resultados sugerem que, assim como ocorre em *Crotalus durissus terrificus*, o processo de homeostase é produto direto das inter-relações complexas e dinâmicas entre hospedeiro e meio ambiente, quando este equilíbrio é alterado reflete diretamente nos parâmetros hematológicos, como foi observado no presente estudo.

Palavras-chave: Estresse; Hematologia; Homeostase; Réptil; Monócito azurófilo

Abstract

Comparative study of hematological parameters of wild and captive rattlesnakes (*Crotalus durissus terrificus*). The aim of this study was to evaluate the intrinsic and extrinsic factors that affect the blood profile of rattlesnakes living under different conditions. Six snakes were divided into two groups, wild animals (group S) and captive animals (group C). The hematological parameters determined were erythrocyte count, hemoglobin (Hb), hematocrit, total plasma protein (TPP), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and differential leukocyte count. The erythrogram showed a significantly higher number of erythrocytes in group S and higher MCV in group C. In the leukogram, the more frequent cells in the blood smears were the neutrophils and azurophils, and group S showed a decrease in total leukocytes, reflecting in a lower azurophilic monocyte count compared to group C. The results show that, as in other species, the process of homeostasis is a direct product of complex interrelationships and dynamics between the host and the environment, and an imbalance, as well as other factors, influences the hemogram of snakes.

Key words: Azurophilic monocyte; Hematology; Homeostasis; Reptiles; Stress

Introducción

El género *Crotalus* pertenece a la familia Viperidae y abarca 28 especies de serpientes. Dentro de este grupo, la especie *Crotalus durissus* (cascabel) tiene una distribución que abarca desde Méjico hasta el norte de Argentina (CAMPBELL; LAMAR, 2004), tiene destaque, pues habita áreas agrícolas y ciudades. Consecuencia de la proximidad con estos centros y sumado con la fragmentación forestal, resultado del crecimiento desordenado de las ciudades (BASTOS et al., 2005), el número de notificaciones de accidentes ofídicos han venido aumentando con los años. En Brasil, esta especie es responsable por cerca de 9,2% del total de las notificaciones, variando de acuerdo con la región (ARAÚJO et al., 2003).

La liberación por parte del gobierno brasilero de criar algunas especies de serpientes venenosas en cautiverio, ha despertado gran interés en la producción de suero antiofídico (IBAMA, 2008). Entre tanto, se observa dificultades con el manejo de estos animales, debido al alto costo en el mantenimiento relacionado a la dieta, instalaciones, técnicos habilitados, tratamientos con posibles enfermedades infecciosas y parasitarias que se intensifican en condiciones de mal manejo. La evaluación hematológica es una herramienta importante para analizar el estado de salud de los animales y diagnosticar enfermedades, inclusive antes del apareamiento de los síntomas y es de gran relevancia en el acompañamiento de los tratamientos, ofreciendo datos que posibilitan al médico veterinario evaluar la

respuesta terapéutica (NAVES et al., 2006; MARTÍNEZ-SILVESTRE et al., 2011).

La hematología de animales salvajes, especialmente los de la fauna brasilera, todavía es un campo de trabajo científico poco explorado, siendo necesario estudios para que se pueda llegar a un nivel adecuado de comprensión de sus particularidades (ALMEIDA et al., 2011). Con base en estas informaciones el presente estudio, objetivó analizar, funcional, morfológica y diferencialmente las células del perfil hematológico de *Crotalus durissus terrificus*, en diferentes condiciones ambientales y de manejo.

Material y Métodos

En el presente estudio fueron utilizadas seis serpientes de cascabel (*Crotalus durissus terrificus*) (Todos los procedimientos realizados en el estudio, siguieron las normas del comité de ética del Instituto y de la Universidad UNESP/FCAV rigurosamente).

Estas fueron divididas en dos grupos, con tres animales cada grupo, grupo S (vida libre) y grupo C (cautiverio). Fueron acondicionados en cajas de plástico (65 cm largo x 38 cm ancho x 21 cm alto); como substrato se utilizó papel microondulado, estas fueron mantenidas en una sala a temperatura ambiente (25-30°C). La biometría fue realizada conforme Mitchell (2009), con peso $1,10 \pm 0,30$ kg y $100,00 \pm 10$ cm de longitud. El análisis fue realizado durante el periodo de invierno.

El grupo S fue constituido por serpientes de vida libre, que fueron aprendidas y encaminadas al Centro de Educación Ambiental Mundo Animal – CEAMA, proyecto conservacionista del “Instituto de Pesquisa em Vida Selvagem e Meio Ambiente – IPEVS”, localizado en la ciudad de Cornélio Procópio – Paraná, Brasil. Para la realización del estudio, los animales fueron mantenidos en cajas plásticas, en los cuales el grupo S presentaban señales de estrés evaluado mediante observación (agresividad alterada, agitación y alteraciones clínicas visibles). Las serpientes del grupo C fueron constituidas por especies nacidas en cautiverio del CEAMA. Estas fueron tratadas con Ivermectina (Ivomec®), Levamisole (Ripercol®) y Fipronil 10% (Frontline® Spray), según Carpenter et al. (2004), para el control de endoparásitos y ectoparásitos, siendo utilizadas para fines de investigación y educación ambiental. Estas serpientes presentaban agresividad normal para la especie en condiciones de cautiverio. El estado sanitario de los animales fue constatada al examen físico y fueron acondicionadas individualmente. La alimentación fue realizada cada 11 días con dieta compuesta de ratones, libre acceso al agua e iluminación natural, conforme a la rutina del serpentario.

Inmediatamente después de la llegada de los animales del grupo S al CEAMA, fue realizado el examen clínico y la colecta de las muestras de sangre para ambos grupos. La sangre fue colectada a través de la punción de la vena coccígea ventral según Campbell (2004) y Almosny y Monteiro (2007). Se colectaron 0,5 mL de sangre de cada animal utilizando aguja 20 x 5,5 y jeringa de 1 mL, almacenados en frasco plástico de fondo cónico, con heparina sódica 5.000 UI/mL. El recuento total de eritrocitos y leucocitos fue realizado en una única fase, con uso de hemocitómetro (cámara de Neubauer). Se utilizaron 20 μ L de sangre, adicionando 4 mL de solución de Natt-Herrick, realizándose la lectura en microscopio de luz en aumento de 400 veces. Los glóbulos rojos fueron contados concomitantemente con el recuento conjunto de los leucocitos y trombocitos. Los valores obtenidos fueron multiplicados por el factor de corrección. Una alícuota de sangre fue destinada para calcular el porcentual de hematocrito por la técnica de microhematocrito (GOLDENFARB et al., 1971), la tasa de hemoglobina por el método de

cianometahemoglobina (COLLIER, 1944). Con estos resultados, fueron calculados los índices hematimétricos, comprendidos por el Volumen Corpuscular Medio (VCM) y Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM).

La cantidad de proteínas plasmáticas totales fue realizada a través de colorimetría, por el método Biureto con lectura en 545 nm. Para el recuento diferencial de leucocitos, los extendidos sanguíneos fueron confeccionados en el momento de la colecta, estos fueron fijados por dos minutos en metanol y posterior coloreados con May-Grunwald-Giemsa (TAVARES-DIAS; MORAES, 2007) y clasificados morfológicamente según Moura et al. (1999). En los extendidos fueron verificados posibles alteraciones morfológicas y presencia de hemoparásitos.

Los resultados fueron sometidos a análisis de variancia por la prueba de F, a un nivel de significancia de 5% (SNEDECOR; COCHRAN, 1974).

Resultados

En la Tabla 1 se presentan los valores medios hematológicos, para los animales del grupo C y grupo S. La evaluación del eritrograma entre los grupos presentó diferencia estadística en relación a los eritrocitos y al VCM, de este análisis, se puede inferir que los animales del grupo S presentan un cuadro de policitemia, evidenciado aumento en el recuento de eritrocitos totales y disminución del VCM, los otros parámetros analizados no presentaron diferencia entre los grupos. Los valores referentes a la concentración de proteína sérica total también no presentaron diferencias estadísticas (Tabla 1).

Del análisis morfológico de los eritrocitos en los frótsis sanguíneos, se puede observar que ambos grupos presentaron modificaciones eritrocitarias, respecto al tamaño se observó macrocitosis y anisocitosis, algunas alteraciones fueron observadas como poiquilócitosis en ambos grupos. Los animales del grupo S presentaron eritrocitos inmaduros en la sangre periférica, estas presentan morfología irregular, con núcleo grande arredondeado y citoplasma basófilo.

Al análisis microscópico de los frótsis sanguíneos se observaron las siguientes células: trombocitos, eritrocitos, heterófilos, monocitos azurófilos y linfocitos. El número de trombocitos, heterófilos y linfocitos no fueron influenciados por el tipo de manejo y ambiente en que los animales fueron expuestos no difiriendo estadísticamente. Entretanto el número de leucocitos totales y de monocitos azurófilos del grupo C fue mayor y estadísticamente diferente cuando fueron comparados con el grupo S (Figura 1).

TABLA 1: Medias (desviación estándar) del eritrograma y de la proteína plasmática total en serpientes de cascabel de cautiverio y vida libre.

Parámetros	Grupos	
	Grupo C	Grupo S
VC (%)	24 (0,82)	27,6 (7,3)
Hb (g/dL)	6,6 (0,62)	7,02 (1,93)
Ert ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	119,3 (10,2) *	326,6 (87,3)
VCM (fL)	20,31 (2,4) *	10,47 (1,8)
CHCM (%)	27,76 (1,66)	25,32 (1,22)
PPT (g/dL)	4,6 (0,32)	4,13 (0,73)

* Medias (n=3) de los grupos C y S difieren por la prueba F ($p < 0,05$). Grupo C: cautiverio; Grupo S: vida libre. VC. Volumen Corpuscular; Hb. Hemoglobina; VCM. Volumen Corpuscular Medio. CHCM. Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media; PPT. Proteína Plasmática Total.

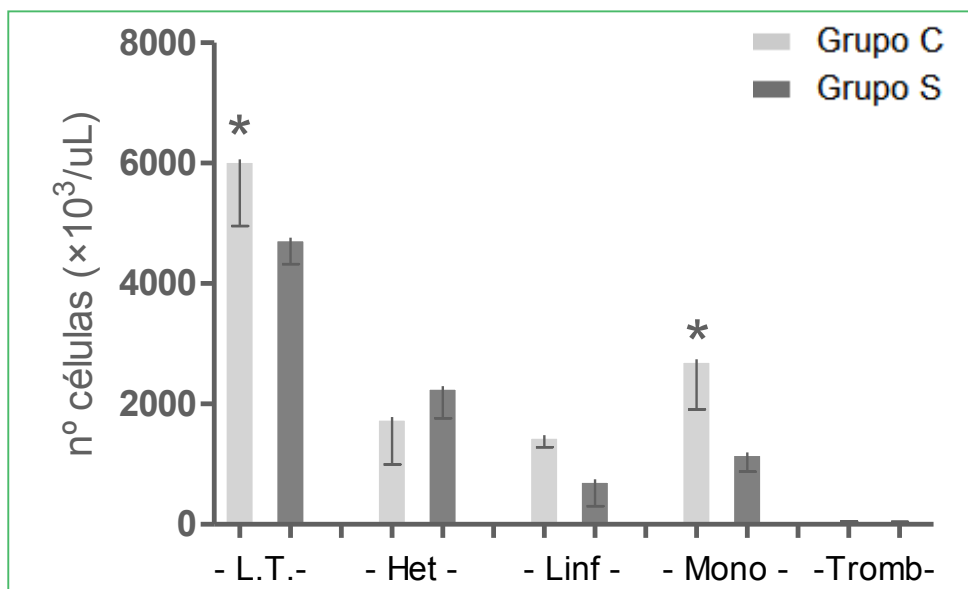
En las seis serpientes de cascabel, al analizar los frótsis sanguíneos no fueron evidenciados hemoparásitos o inclusiones citoplasmáticas. Esta observación indicó que no hubo algún tipo de influencia en los valores de los hemogramas analizados.

Discusión

El tipo de manejo, ambiente y las enfermedades, de modo general, están relacionados a las alteraciones del hemograma en todas las especies animales, por eso el cuadro hematológico de serpientes en diferentes condiciones de ambiente viene siendo estudiado. En este estudio se verificó que los valores encontrados para el grupo C están dentro de los valores de normalidad encontrados en la literatura descrita para otros ofideos (SALAKIJ et al., 2002; SILVA et al., 2009; MARTÍNEZ-SILVESTRE et al., 2011).

En el eritrograma de los animales del grupo S se observó aumento en la cantidad de eritrocitos con consecuente disminución del VCM, cuando fue comparado con el grupo C. Esas variaciones en el cuadro hematológico puede ser atribuida a las condiciones de restricción en las cuales estos animales se encontraban,

FIGURA 1: Efecto de los diferentes ambientes en serpientes de cascabel de cautiverio (Grupo C) y de vida libre (Grupo S) sobre el leucograma. Los resultados están expresados con la media \pm desviación estándar (n=3); *Indica diferencia significativa ($p < 0,05$) por el test de Tukey a 5%. LT: leucocitos totales; Het: heterófilos; Linf: Linfocitos; Mono: monocitos azurófilos; Tromb: trombocitos.



ocasionando un cuadro de policitemia relativa decurrente de la hemoconcentración causada por la deshidratación, evidenciada por el aumento de volumen globular y de la hemoglobina, factores ligados a condiciones ambientales y de manejo nutricional que son bien descritos en la literatura como causadores de alteraciones en las variables hematológicas en reptiles (SAINT GIRONS, 1970; MITCHELL, 2009). Esta gran diferencia de eritrocitos entre los grupos no puede ser atribuido apenas a un fenómeno, siendo que la restricción física al momento de realizar las colectas puede haber causado una contracción esplénica en los animales salvajes, pues estos son menos adaptados a la manipulación, este cuadro fue observado en otras especies de reptiles (ALMEIDA et al., 2011).

La posibilidad de deshidratación es descartada para los valores de la PPT, ya que ambos grupos presentaron valores semejantes, siendo que en casos de deshidratación ocurre aumento en la cantidad de PPT (MITCHELL, 2009), sin embargo y debido a la posible restricción alimentaria que las serpientes del grupo S tienen la posibilidad de una hipoproteinemia que podría enmascarar una deshidratación. Las alteraciones morfológicas de los eritrocitos presentados por todos los animales analizados están dentro de los valores de normalidad (CAMPBELL, 2004; SILVA et al., 2009). Frecuentemente en serpientes salvajes es descrita la presencia de hemoparásitos (GREGO et al., 2006), sin embargo ninguna de las serpientes de los grupos experimentales presentó hemoparásitos en el fróntis sanguíneo.

Con relación al recuento de leucocitos identificados en las serpientes de cascabel, son morfológicamente similares con lo descrito en la literatura para esta especie similares (CAMPBELL, 2006; ALMOSNY; MONTEIRO, 2007). En el recuento diferencial de leucocitos, en los animales de cautiverio se puede observar aumento en comparación con animales salvajes como los encontrados por Grego et al. (2006) para la misma especie, a pesar de estos animales no presentar ninguna señal clínica, este aumento sugiere una respuesta inflamatoria crónica de alguna enfermedad asintomática, evidenciado por el predominio de monocitos azurófilos (48%), célula predominante en

los procesos inflamatorios crónicos en diversas especies (MARTÍNEZ-SILVESTRE et al., 2011).

Existen controversias en la literatura en lo que respecta al tipo de célula predominante en la sangre de reptiles, algunos autores observan una proporción mayor de linfocitos en serpientes (GREGO et al., 2006; MITCHELL, 2009), otros relatan mayor predominio de heterófilos llegando a representar más del 50% del total de leucocitos (KIRCHGESSNER et al., 2009; MITCHELL, 2009; MARTÍNEZ-SILVESTRE et al., 2011). Estos últimos corroboran con los resultados encontrados en el presente trabajo para los animales del grupo S, donde se verificó un porcentual de 61% de heterófilos, siendo la principal función de estas células la fagocitosis. Este aumento significativo puede estar asociado a enfermedades inflamatorias agudas como una infección microbiana o una respuesta al estrés, que ocasiona la liberación excesiva de cortisol (BELO et al., 2005; 2012).

Uno de los factores que puede haber contribuido para el bajo número de linfocitos, fue la época en que se realizó el experimento, pues en el periodo de invierno el recuento de linfocitos tiende a ser menor que en el verano (JACOBSON, 1984). Otros factores atribuidos a la linfopenia es la subnutrición y el estrés (CAMPBELL, 2004), condiciones en las cuales las serpientes salvajes se encontraban cuando conducidas al CEAMA.

En las extensiones no fue observada la presencia de eosinófilos y basófilos. Valores relativos de eosinófilos varían entre 0 a 10% en serpientes (SALAKIJ et al., 2002; MITCHELL, 2009), en reptiles sin sintomatología clínica el recuento de azurófilos y basófilos puede ser nulo (MARKS; CITINO, 1990; WRIGHT; SKEBA, 1992). La ausencia de estos tipos celulares puede ser debido a la falta de estandarización en la identificación de las células y escasez de literatura en lo que respecta a hematología de reptiles, eso causa controversias en la literatura cuando se refiere a clasificación morfológica de las células sanguíneas. Los eosinófilos son frecuentemente confundidos con heterófilos, ya que ambos se tiñen con eosina, sin embargo tengan otras características de identificación (MITCHELL, 2009), los azurófilos poseen características citoquímicas y ultraestructurales semejantes a los monocitos azurófilos

(MONTALI, 1988), cumprindo estas células la misma función (RASKIN, 2000). Varios autores consideran los azurófilos como monocitos azurófilos, sin diferenciar este tipo celular (MONTALI, 1988; CAMPBELL, 2006). De esta forma se torna difícil evaluar las respuestas celulares de los azurófilos frente a enfermedades y/u otras condiciones como las que serpientes de los dos grupos experimentales fueron sometidas.

La información del presente trabajo dio apoyo a las hipótesis formuladas, de que en reptiles, así como en mamíferos y otras especies, las variables hematológicas son resultante directa de las interrelaciones complejas y dinámicas entre el reptil y el medio ambiente influenciando directamente con consecuente alteración en la homeóstasis del animal. Se espera que estos resultados sirvan de base para nuevos estudios sobre valores hematológicos.

Agradecimientos

Al Centro de Educação Ambiental Mundo Animal – CEAMA, proyecto conservacionista del “Instituto de Pesquisa em Vida Selvagem e Meio Ambiente – IPEVS”, por aportar los animales.

Referências

ALMEIDA, A. M. B.; NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; NOGUEIRA, S. S. C.; MUNHOZ, A. D. Aspectos hematológicos de catetos (*Tayassu tajacu*) mantidos em cativeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 2, p. 173-177, 2011.

ALMOSNY, N. R. P.; MONTEIRO, A. M. Patologia clínica. In: CUBAS, Z. S.; SILVA J. C. S.; CATÃO-DIAS, J. L. (Ed.). **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p. 939-966.

ARAÚJO, J. L. C.; SANTALÚCIA, M.; CABRAL, R. F. Epidemiologia dos acidentes para animais peçonhentos. In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD-JR, V. (Ed.). **Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. p. 6-12.

BASTOS, E. G. M.; ARAÚJO, A. F. B.; SILVA, H. R. Records of the rattlesnakes *Crotalus durissus terrificus* (Laurenti) (Serpentes, Viperidae) in the state of Rio de Janeiro, Brazil: a possible case of invasion facilitated by deforestation. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 22, n. 3, p. 812-815, 2005.

BELO, M. A. A.; MORAES, J. R. E.; SOARES, V. E.; MARTINS, M. L.; BRUM, C. D.; MORAES, F. R. Vitamin C and endogenous cortisol in foreign-body inflammatory response in pacus.

Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 47, n. 7, p. 1015-1021, 2012.

BELO, M. A. A.; SCHALCH, S. H. C.; MORAES, F. R.; SOARES, V. E.; OTOBONI, A.; MORAES, J. R. E. Effect of dietary supplementation with vitamin E and stocking density on macrophage recruitment and giant cell formation in teleost fish *Piaractus mesopotamicus*. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 133, n. 2-3, p. 146-154, 2005.

CAMPBELL, J. A.; LAMAR, W. W. Lance heads, genus *Bothrops wagler*, 1824. In: CAMPBELL, J. A.; LAMAR, W. W. (Ed.). **The venomous reptiles of the western hemisphere**. New York: Cornell University Press, 2004. p. 334-409.

CAMPBELL, T. W. Hematology of reptiles. In: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R.; CAMPBELL, T. W. (Ed.). **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2004. p. 259-276.

CAMPBELL, T. W. Clinical pathology of reptiles. In: MADER, D. R. (Ed.). **Reptile medicine and surgery**. St Louis: Missouri: Saunders Elsevier, 2006. p. 490-532.

CARPENTER, J. W.; MASHIMA, T. Y.; RUIPIPER, D. J. Antiparasitic agents used in reptiles. In: CARPENTER, J. W. (Ed.). **Exotic animal formulary**. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2004. p. 51-58.

COLLIER, H. B. The standardization of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, Vancouver, v. 50, n. 6, p. 550-552, 1944.

GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; HALL, E.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, New York, v. 56, n. 1, p. 35-39, 1971.

GREGO, K. F.; ALVES, J. A. S.; RAMEH DE ALBUQUERQUE, L. C.; FERNANDES, W. Referências hematológicas para jararaca de rabo branco (*Bothrops leucurus*) recém-capturadas da natureza. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 6, p. 1240-1243, 2006.

IBAMA – INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Instrução normativa IBAMA Anexo nº 169**, de 20 de fevereiro de 2008. p. 1. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/cartas-topo-bh-sao-francisco/category/77-legislacao_fauna?download=5576%3A2008_ibama_in_169-2008_anexo>. Acesso em: 2 out. 2013.

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

KIRCHGESSNER, M.; MITCHELL, M. A. Chelonians. In: MITCHELL, M. A.; TULLY, T. N. (Ed.). **Manual of exotic pet practice**. St Louis: Saunders/Elsevier, 2009. p. 207-249.

MARKS, S. K.; CITINO, S. B. Hematology and serum chemistry of the radiated tortoise (*Testudo radiata*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Yulee, v. 21, n. 3, p. 342-344, 1990.

MARTÍNEZ-SILVESTRE, A.; LAVÍN, S.; CUENCA, R. Hematología y citología sanguínea en reptiles. **Clínica Veterinaria de Pequeños Animales**, Barcelona, v. 31, n. 3, p. 131-141, 2011.

MITCHELL, M. A. Snakes. In: MITCHELL, M. A.; TULLY T. N. (Ed.). **Manual of exotic pet practice**. St Louis: Saunders/Elsevier, 2009. p. 136-163.

- MONTALI, R. L. Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (reptiles, birds, and mammals). **Journal Comparative Pathology**, London, v. 99, n. 1, 1-26, 1988.
- MOURA, W. L.; MATUSHIMA, E. R.; OLIVEIRA, L. W.; EGAMI, M. I. Aspectos morfológicos e citoquímicos dos glóbulos sangüíneos de *Caiman crocodilus yacare* (Daudin, 1802) (*Reptilia, Crocodilia*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 45-50, 1999.
- NAVES, E. A.; FERREIRA, F. A.; MUNDIM, A. V.; GUIMARÃES, E. C. Valores hematológicos do macaco prego (*Cebus apella*, Linnaeus, 1758) em cativeiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 22, n. 2, p. 125-131, 2006.
- RASKIN, R. E. Reptilian complete blood count. In: FUDGE A. M. (Ed.). **Laboratory medicine: avian and exotic pets**. Philadelphia: W. B. Saunders, 2000. p. 193-204.
- SAINT GIRONS, M. C. Morphology of the circulating blood cells, In: GANS, C. (Ed.). **Biology of the reptilian**. Vol. 3. Morphology C. New York, Academic Press. 1970. p. 73-91.
- SALAKIJ, C.; SALAKJI, J.; APIBAL, S.; NARKKONG, N.; CHANHOM, L.; ROCHANAPAT, N. Hematology, morphology, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of blood cells in king cobras (*Ophiophagus Hannah*). **Veterinary Clinical Pathology**, Madison, v. 31, n. 3, p. 116-126, 2002.
- SILVA, P. H.; HASHIMOTO, Y.; ALVES, H. B. **Hematologia laboratorial**. Rio de Janeiro: Ed. Revinter, 2009. 466 p.
- SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. Ames: Iowa State University Press, 1974. 503 p.
- TAVARES-DIAS, M. E.; MORAES, F. R. Leukocyte and thrombocyte reference values catfish (*Ictalurus punctatus* Raf), with an assessment of morphologic, cytochemical, and ultrastructural features. **Veterinary Clinical Pathology**, Madison, v. 36, n. 1, p. 49-54, 2007.
- WRIGHT, K. M.; SKEBA, S. Hematology and plasma chemistries of captive prehensile-tailed skins (*Corucia zebrata*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Yulee, v. 23, n. 4, p. 429-432, 1992.