



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Maria Isabel Sousa Paiva

**Manejo de serpentes em cativeiro: análise da
infraestrutura, saúde animal e enfermidades virais e
parasitárias.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. Benedito Barraviera
Co-orientador: Prof. Dr. João Pessoa Araújo Júnior

Botucatu

2015

Maria Isabel Sousa Paiva

Manejo de serpentes em cativeiro: análise da infraestrutura, saúde animal e enfermidades virais e parasitárias.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. Benedito Barraviera
Co-orientador: Prof. Dr. João Pessoa Araújo Júnior

**Botucatu
2015**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Paiva, Maria Isabel Sousa.

Manejo de serpentes em cativeiro : análise da infraestrutura, saúde animal e enfermidades virais e parasitárias / Maria Isabel Sousa Paiva. - Botucatu, 2015

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Benedito Barraviera

Coorientador: João Pessoa Araújo Junior

Capes: 50502050

1. Serpente peçonhenta - Peçonha. 2. Cobra. 3. Animais silvestres em cativeiro. 4. Doenças parasitárias. 5. Virologia veterinária. 6. Certificação.

Palavras-chave: Manejo de serpentes; Paramixovirus ofídico; Parasitologia; Serpentário; Sistemas de cativeiro.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

DEDICATÓRIA

Dedico todas as minhas vitórias especialmente aos meus pais, sem eles nada disso poderia se concretizar. Obrigada pelo apoio incondicional e por acreditarem nos meus sonhos, mesmo que isso significasse morar em outra cidade, mesmo com todas as dificuldades.

Aos meus grandes amigos, sem vocês a vida seria cinza e sem graça, obrigada pela inspiração e apoio nos momentos mais difíceis e solitários. Em especial à Priscila por compartilhar comigo tanto os sorrisos quanto lágrimas, o meu eterno agradecimento amiga.

Aos meus professores, pelos ensinamentos não só em sala de aula como também de aprendizado de vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Benedito Barraviera, pela confiança depositada em mim como sua aluna, por acreditar em meu potencial e pelo apoio educacional.

Ao Professor Doutor João Pessoa Araújo Junior pelos inestimáveis conhecimentos adquiridos nos últimos dois anos no Laboratório de Virologia no Instituto de Biociências de Botucatu (IBB) da UNESP – *Campus* de Botucatu, pela orientação e pela amizade formada neste tempo, além da colaboração nos testes de ELISA.

Ao professor Doutor Reinaldo José da Silva por toda a ajuda sobre literatura de parasitas, exame necroscópico realizado e o apoio do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências do *Campus* de Botucatu.

À Professora Doutora Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt pelo conhecimento adquirido e apoio do Laboratório de Enfermidades Parasitárias dos Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP *Campus* de Botucatu.

Ao Laboratório Clínico Veterinário da FMVZ – UNESP *Campus* de Botucatu na colaboração nos exames coproparasitológicos, hematológicos e bioquímicos.

À médica veterinária Camila Thomazini pela ajuda com as coletas de sangue, leituras de lâminas, testes hematológicos e bioquímicos.

Às pós-graduandas do Laboratório de Virologia do Instituto de Biociências da UNESP *Campus* de Botucatu, em especial Michely, Raissa, Jacqueline, Cláudia e Camila.

À residente de Enfermidades Parasitárias dos Animais Giovanna Brombini pela ajuda com a identificação dos endoparasitas no Laboratório de Enfermidades Parasitária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP *Campus* de Botucatu.

Ao diretor estatístico da Conspart Helio R. C. Nunes pela ajuda com os cálculos estatísticos utilizados neste estudo.

Aos técnicos do CEVAP por toda a ajuda no meu aprimoramento profissional, na minha pesquisa e pela amizade durante este tempo, e todos os demais funcionários, estagiários, aprimorandos, pós-graduandos e pós-doutorandos do CEVAP por todo o apoio.

Ao curso de Pós Graduação em Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem da Faculdade de Medicina de Botucatu.

À CAPES pela bolsa de estudos.

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1. Manejo de serpentes em cativeiro	2
2.2. Sinais clínicos e enfermidades mais comuns	3
2.2.1. Anorexia	3
2.2.2. Síndrome da má adaptação	4
2.2.3. Parasitoses	7
2.2.3.1. Ectoparasitoses	7
2.2.3.2. Endoparasitoses	9
2.2.3.3. Hemoparasitoses.	11
2.2.4. Paramixovirose	12
2.3. Hematologia das serpentes	14
2.4. Provas bioquímicas do sangue	17
2.5. Estudos prévios	19
3. OBJETIVOS	20
3.1. Objetivos gerais	20
3.2. Objetivos específicos	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1. Infraestrutura	21
4.1.1. Serpentário de Manejo Intensivo	21
4.1.1.1. Triagem e quarentenários	21
4.1.1.2. Salas dos gêneros <i>Crotalus</i> e <i>Bothrops</i>	22
4.1.1.3. Museu de visitação	23
4.1.2. Serpentário de Manejo Semiextensivo	23
4.2. Animais e delineamento experimental	24
4.3. Avaliações clínicas e laboratoriais	26
4.3.1. Exame clínico	26

4.3.2. Taxa de mortalidade e longevidade	28
4.3.3. Exames laboratoriais	28
4.3.3.1. Exames coproparasitológicos	28
4.3.3.1.1. Coleta de fezes	28
4.3.3.1.2. Técnica de Flutuação de Willis e Mollay	29
4.3.3.1.3. Técnica de Centrifugo-flutuação de Faust	30
4.3.3.2. Exames hematológicos	30
4.3.3.2.1. Coleta de sangue	30
4.3.3.2.2. Hemograma	31
4.3.3.2.3. Exames bioquímicos	32
4.3.3.2.4. Avaliação sorológica pela técnica de ELISA	32
4.3.3.2.4.1. Purificação OPMV	32
4.3.3.2.4.2. Antissoros de captura e detector	33
4.3.3.2.4.3. Soros referência	33
4.3.3.2.4.4. Soros teste	33
5. RESULTADOS	36
5.1. Infraestrutura	36
5.2. Exames clínicos, taxas de mortalidade e longevidade	36
5.3. Exames coproparasitológicos	40
5.4. Exames hematológicos e bioquímicos	44
5.5. Exame sorológico – ELISA	47
6. DISCUSSÃO	48
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES	55
8. REFERÊNCIAS	57
9. ANEXOS	71

RESUMO

O manejo de serpentes em cativeiro é um desafio permanente para os criadores. As peçonhentas têm papel fundamental na toxinologia e na produção de imunobiológicos a partir de suas toxinas. A eficiência desta produção está diretamente ligada ao manejo e à sobrevivência. Dentre as enfermidades mais relatadas em serpentários estão as ecto, endo e hemoparasitoses, as viroses respiratórias, os distúrbios gastrointestinais e a síndrome da má adaptação. O objetivo deste trabalho foi reavaliar o procedimento operacional padrão implantado em 2011 no Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos da UNESP (CEVAP), bem como diagnosticar as principais enfermidades que atingem o plantel por meio de exames clínicos e laboratoriais. Para esta pesquisa foram selecionadas 42 serpentes peçonhentas e não peçonhentas de nove espécies distribuídas aleatoriamente entre os setores do serpentário de manejo semiextensivo e intensivo. Analisou-se a infraestrutura do Centro e foram realizados exames clínicos, coproparasitológicos, hematológicos, bioquímicos, sorológico para paramixovírus ofídico (OPMV), e por fim calculou-se a taxa de mortalidade e longevidade destes animais ao final de um período de 20 meses. No início do estudo todos os animais apresentavam bom escore corporal e aparente higidez. Após a avaliação coproparasitológica, foi observada uma prevalência de 35% de endoparasitismo, onde estes apresentaram ovos de estrongilídeos, oxiurídeos, trematódeos, oocistos de coccídeos e um ascarídeo adulto na avaliação necroscópica. Dos testes hematológicos e bioquímicos, cinco animais apresentaram os menores índices de hematócrito com a presença de hemogregarinas em um animal. Quatro serpentes *Crotalus durissus terrificus* (9,5%) apresentaram anticorpos contra o paramixovírus (OPMV). Apesar de pontuais, estes resultados ajudam a visualizar os problemas do serpentário e uma possibilidade de tratamento individual de acordo com a necessidade de cada espécie, visando à saúde do plantel como um todo. A taxa de mortalidade foi calculada em 38%, dos quais 62% pertenciam ao gênero *Crotalus*, 31% ao gênero *Bothrops* e 6% ao gênero *Hydrodynastes*. A queda na taxa de mortalidade de 51% em 2011 para 38% em 2014 indica melhoria nas boas práticas de manejo. O serpentário semiextensivo possui vantagens como acesso a luz solar, espaço para

movimentação e menos estresse, porém foi o local com maior número de óbitos (62%). Por outro lado, o serpentário intensivo continha os animais com maior carga parasitária, apesar de ser o local com maior facilidade de controle de temperatura, umidade, limpeza e alimentação. Não se constatou diferença estatisticamente significativa em relação à longevidade entre os gêneros *Bothrops* e *Crotalus*, porém houve indícios de que as serpentes *Bothrops* eram mais longevas (*Bothrops*=1387 vs *Crotalus*=837; $p=0,118$) e que as serpentes *Crotalus* viviam em ambiente significativamente mais hostil (serpentário semiextensivo). Ao final deste estudo sugere-se um replanejamento da terapia anti-helmíntica com a substituição da ivermectina por levamisol e praziquantel, além de exames coproparasitológicos de rotina, haja vista a grande quantidade de resultados positivos. Sugere-se também a inclusão dos testes sorológicos para pesquisa do OPMV na rotina do manejo para evitar surtos inesperados como já ocorrido anteriormente. Ainda que existam diversos serpentários produtores de veneno no Brasil para fins comerciais e/ou científicos, ainda não existe um procedimento operacional padrão (POP) único para as boas práticas de manejo em cativeiro. O manejo de animais em cativeiro deve ser encarado sempre como uma atividade dinâmica, de observação constante e reavaliação permanente. Seguindo esta orientação, proporcionaremos adaptação precoce ao cativeiro, melhora na qualidade de vida, maior sobrevivência e produção de peçonha com qualidade, condições estas requeridas para a certificação dos animais e dos produtos extraídos.

Palavras-chave: Manejo de serpentes, serpentário, sistemas de cativeiro, parasitologia, paramixovírus ofídico, certificação.

ABSTRACT

The captivity maintenance of snakes it is a challenge for the breeders, especially in disease control. The venomous has an important role in toxinology and production of biopharmaceuticals. The efficiency of production is directly linked to the management and survival. Among the most frequently reported diseases in serpentarium are the ecto, endo and hemoparasitoses, respiratory viruses, gastrointestinal disorders and the general adaptation syndrome. The aim of this study was to re-evaluate the standard operating procedure implemented in 2011 in Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP) and diagnose the main diseases that affects the squad through clinical and laboratory tests. For this survey were selected 42 venomous and non-venomous snakes of nine species randomly distributed among the sectors of the semiextensive and intensive maintained in the Serpentarium. It was analyzed the infrastructure of the Centre and clinical examinations were performed, besides fecal, hematological, biochemical tests, serological tests for ophidian paramyxovirus (OPMV), and finally it was calculated the mortality rate and longevity of these animals at the end of a period of 20 months. At baseline all animals had good body condition and apparent healthiness. After copro-parasitologic examen, were observed a prevalence of 35% of endoparasites, where they had strongyles, oxyurid, trematodes eggs, oocysts of coccidia and an adult ascarid at the necroscopic evaluation. The results of haematological and biochemical tests showed that five animals had the lowest hematocrit levels, in addition the presence of hemogregarines in a single animal was observed. Four snakes *Crotalus durissus terrificus* (9.5%) had antibodies against ophidian paramyxovirus (OPMV). Although punctual, these results can help to analyze the Serpentarium problems and a possibility of individual treatment according to the needs of each species, aiming at the health of the squad as a whole. The mortality rate was estimated at 38%, of which 62% belonged to the genus *Crotalus*, 31% to the genus *Bothrops* and 6% *Hydrodynastes* genre. The mortality decreasing rate from 51% in 2011 to 38% in 2014 can indicate improvement in best maintenance practices. The semiextensive serpentarium has advantages such as access to sunlight, space for movement and less stress, however it was the site with the highest number of deaths (62%). On the other

hand, intensive serpentarium was occupied by the animals with higher parasite load, although the easier temperature controls, humidity, cleaning and feeding. There was no statistically significant difference in relation to longevity between Bothrops and Crotalus, nevertheless there was evidence that Bothrops were more long-lived (Bothrops = 1387 vs Crotalus = 837; $p = 0.118$) and the Crotalus lived in environment more hostile (semiextensive serpentarium). At the end of this study, these findings suggest that a redesign of anthelmintic therapy with the replacement of ivermectin by levamisole and praziquantel, in addition to routine fecal examinations, given the large amount of positive results. It can be also suggested that the inclusion of serological tests for OPMV research in maintenance routine to avoid unexpected outbreaks as has occurred previously. Although there are many serpentarium in Brazil for commercial and / or scientific, yet there is no standard operating procedure for good captive maintenance practices. The captive animals maintenance should always be seen as a dynamic activity, constant observation and continuous inspection. Through these guidelines, early adaptation to captivity, quality of life improving, longer survival and production of poison with quality can be provided for these animals, which are important conditions required for the certification of animals and products.

Keywords: Maintenance snakes, serpentarium, captive systems, parasitology, ophidian paramyxovirus, certification.

1. INTRODUÇÃO

Em um serpentário produtor de peçonha, para uma matéria-prima de boa qualidade se torna necessária à sobrevivência de cada indivíduo mantido em cativeiro, embora seja comum uma alta mortalidade no plantel de serpentes (1).

Dentre os problemas mais comuns enfrentados nestes locais citam-se problemas na infraestrutura e manejo que não levem em consideração a biologia das serpentes (2) e ocasionalmente promovam situações de estresse (3), com consequências diretas em sua imunidade. As enfermidades mais comuns em serpentários e coleções particulares são as ecto, endo e hemoparasitoses (4), as viroses respiratórias, em especial a paramixovirose (5), problemas gastrointestinais e a síndrome da má adaptação (6).

O intuito deste trabalho foi reavaliar o procedimento operacional padrão implantado em 2011 no CEVAP, bem como diagnosticar as principais enfermidades que atingem o plantel, além de descrever as dificuldades encontradas em serpentários, abordando as causas e soluções a fim de desenvolver o bem estar e saúde das serpentes.

As serpentes peçonhentas têm papel fundamental nos estudos em toxinologia e na fabricação de imunobiológicos sendo a eficiência desta produção diretamente ligada à sobrevivência destes animais, e, portanto, necessário o conhecimento básico de sua biologia, fisiologia, principais enfermidades e métodos para conservação destes (1).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Manejo de serpentes em cativeiro

Com o propósito da manutenção de répteis saudáveis em cativeiro, determinados procedimentos devem ser efetuados rigorosamente como quarentena, desinfecção, exames clínicos regulares, exames de fezes, vermifugação quando necessária, e cuidados com a transmissão de enfermidades em grandes coleções. O conhecimento da biologia básica de um réptil e de seu manejo adequado torna-se necessário para conferir um diagnóstico apropriado e tratar esse grupo específico de animais, especialmente por sua característica ectotérmica (7). A situação geográfica dos serpentários tem papel fundamental para o sucesso do manejo destes animais, exigindo certo grau de climatização dos criadouros e fornecendo condições ambientais básicas para cada espécie em particular. A manutenção de serpentes leva em consideração uma estrutura e funcionamento diferenciados, com funcionários qualificados e programas de vigilância, revisão e aperfeiçoamento do sistema de criação. São descritos dois tipos de criação de serpentes, o intensivo e o semiextensivo. No primeiro, com o qual funciona a maioria dos serpentários científicos, proporciona uma forma mais simples de cativeiro, com maior facilidade de controle e manutenção nos quesitos alimentação, reprodução, além de controles ambientais de temperatura e umidade. Como desvantagem, os animais ficam impossibilitados de termorregulação apropriada, com um espaço físico reduzido, que propicia a atrofia muscular e muitas vezes levando a obesidade. A estes fatores somam-se a quebra da fisiologia natural destes animais, o que pode configurar em uma baixa de imunidade e o surgimento de enfermidades muitas vezes contagiosas (2).

Por outro lado, o serpentário semiextensivo trabalha com fatores similares aos encontrados em natureza, como espaços amplos, vegetação, exposição à luz solar para uma termorregulação apropriada. Como desvantagens, existe a rivalidade alimentar e durante o período de acasalamento, o que requer uma vigilância extra. Este tipo de manejo é indicado para produção de grandes quantidades de veneno homogêneo por longo período de tempo e quando se dispõe de uma área extensa (2).

Costa e colaboradores (1) fizeram um estudo que descreve e analisa dados de 1970 a 1998 sobre a longevidade medida em dias das serpentes Viperidae (n = 4565) pertencentes ao cativeiro intensivo com resultados dos animais mais longevos dos gêneros *Bothrops* de 4503 dias, *Crotalus* 3515 e *Lachesis* de 2033 dias. Em um estudo no próprio CEVAP realizado por Campagner e colaboradores (8) em 2011 relata taxa de mortalidade em 12 meses de cativeiro para as espécies *C. durissus terrificus* com 51,02% de óbitos; 40% para *B. moojeni* e 78,57% para *B. alternatus*. Em resumo, este autor afirma que a maioria dos viperídeos analisados, 50% vem a óbito nos primeiros 12 meses de cativeiro.

O sucesso na manutenção de serpentes de cativeiro tem reflexos diretos na independência da captura, entrega ou doação destes animais para pesquisas em toxinologia, garantindo a produção de grandes plantéis com venenos de alta qualidade (1).

2.2. Sinais clínicos e enfermidades mais comuns em serpentes de cativeiro

2.2.1. Anorexia

A anorexia é considerada um sinal clínico que pode ser definido como falta de apetite que pode acompanhar uma variedade de enfermidades infecciosas e metabólicas, condições inapropriadas de manejo ou mesmo de problemas comportamentais. Exposição constante ao público; o oferecimento de alimentos em horários inapropriados para a espécie; luzes artificiais acesas por muito tempo ou que nunca são desligadas; condições reprodutivas como a fêmea prenhe ou macho em época de acasalamento; condições de hibernação; anorexia sazonal relacionado à baixa de temperatura; animais recém-chegados ao cativeiro; serpentes juvenis em transição de dieta ontogenética; dias antes da próxima ecdise são algumas das situações em que estes animais interrompem o processo de alimentação (6).

Existem diversas enfermidades que provocam a anorexia, tais como ectoparasitoses (9), endoparasitoses (10), gastroenterites causadas por *Cryptosporidium* sp. (11), estomatites, infecções virais como a paramixovirose (12), doenças neoplásicas, ingestão de corpos estranhos e impactações, dentre outras. Desta maneira, possíveis causas da anorexia podem ser diagnosticadas por meio

de exames subsidiários, tais como hemograma, análise bioquímica (proteínas totais, albumina), exame de fezes, coprocultura, radiografia, endoscopia e até biópsia com aspiração de massas para exames citopatológicos (12,13). O tratamento está diretamente ligado à causa ou causas deste sinal clínico e que na maioria das vezes envolve correções de manejo, tratamento antiparasitário e alimentação assistida dos animais debilitados (6).

2.2.2. Síndrome da Má Adaptação

O estresse é uma resposta resultante da interação do animal com o ambiente em que vive, naturalmente ou ao qual é artificialmente submetido quando em cativeiro, e pode ser um fenômeno adaptativo (3, 14). Os animais devem manter-se em um estado de equilíbrio em resposta a alterações do ambiente, esse estado é chamado homeostasia (15), e qualquer estímulo que o altere, seja interno ou externo, é um agente estressor, e as diversas reações do corpo para combater esta alteração compõem a resposta ao estresse (16). Os agentes estressores podem ser classificados como somáticos (sons, odores, pressão, frio e efeitos de agentes químicos), psicológicos (apreensão, ansiedade, medo, fúria e frustração), comportamentais (superpopulação, disputas hierárquicas, falta de contato social e mudanças no ritmo biológico) e variados (má nutrição, parasitismo, infecções, cirurgias, imobilização química ou física e confinamento) (14).

A resposta de adaptação ao estresse envolve três fases distintas que caracterizam a Síndrome Geral da Adaptação (SGA): reação de alarme, estágio de resistência e estágio de exaustão (17,18). O primeiro estágio ocorre quando o animal se defronta com o estresse, ocorrendo mobilização geral do organismo na tentativa de adaptação às novas condições e liberação de catecolaminas pela medula da adrenal (19). O segundo estágio ocorre quando o agente estressor é mantido (20) e o sistema nervoso autônomo entra em hiperatividade e ocorre liberação de glicocorticóides pelo córtex adrenal e sua resposta frente ao estressor encontra-se diminuída (19). O último estágio acontece quando o agente estressor é mantido até que o animal não tenha mais a capacidade de se adaptar, não ocorrendo descanso nem volta à

homeostasia (20), as reservas energéticas vão se esgotando e o processo evolui até o óbito do animal por falência múltipla de órgãos (19).

Dentre as alterações comportamentais estão a agressividade e tendências anti-sociais, recusa de alimento e água ou podem apresentar polifagia e a atividade sexual pode mostrar-se reprimida ou exacerbada (14). Uma “resposta padrão” a um agente estressor envolve a ativação do sistema límbico, que regula os comportamentos víscero-somáticos, sexual, defensivo, agressivo, irracional e instintivo (21), além de ser um regulador neuroendócrino, induzindo o hipotálamo a produzir o hormônio liberador de corticotrofinas (CRH). Este último é um peptídeo que regula a secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), o qual atua no córtex adrenal, resultando em um aumento da síntese e liberação de corticosterona (3, 22, 23, 24).

Uma importante ação dos glicocorticoides é interferir na resposta imune, tornando os animais estressados susceptíveis a enfermidades. Sabe-se que estes esteroides induzem neutrofilia, lise e marginalização de linfócitos T, de monócitos e eosinófilos, e diminuem a proliferação de células linfóides (14, 16, 23).

Uma vez que o réptil percebe um estímulo como ameaça, seu cérebro libera uma resposta neuroendócrina que consiste em fase aguda e crônica. A fase aguda é regulada pelo sistema nervoso simpático, o qual é imediatamente ativado e tem efeito direto em diversos tecidos do corpo (26). Os répteis que estão agudamente ou intensamente estressados estão predispostos à emaciação, depleção do sistema imune e problemas reprodutivos. Já os animais progressivamente e cronicamente estressados estão predispostos à obesidade e à lipidose hepática (15). O estresse agudo é considerado adaptativo, capacitando os animais para escapar do perigo. Entretanto, quando prolongado, torna-se crônico podendo afetar o bem estar dos animais de cativeiro (27). A redução de espaço físico, temperatura subótima, umidade e substrato inadequados são potenciais fontes de estresse crônico (28).

Em serpentários científicos, o próprio ambiente de cativeiro introduz agentes estressores na manutenção de serpentes peçonhentas para extração de veneno, como na limpeza das caixas em que os animais vivem (29), o manejo, a contenção destes animais, coleta de fluidos e materiais biológicos e a própria extração de veneno estão associadas com o aumento das

concentrações de corticosterona plasmática, fato este que está envolvido com os processos de estresse em animais de cativeiro (30, 31, 32).

O cativeiro é um fator limitante ao animal, e em algumas espécies a adaptação à vida cativa não ocorre, desenvolvendo a chamada “Síndrome da Má Adaptação”, onde os animais iniciam um processo de anorexia que pode resultar em morte (33, 34, 35). Esta síndrome é uma enfermidade causada por consequências patológicas ao estresse, onde os tecidos tendem a perder a integridade estrutural e diversas enfermidades começam a se manifestar tais como, ulcerações da mucosa oral e entérica, debilidade alimentar e um aumento dos efeitos do parasitismo (36). Segue no anexo I uma tabela adaptada de Silvestre (37) em 2014 contendo o tempo de resposta (liberação de corticosterona) após alguns exemplos de estímulo estressantes em répteis.

Para a mensuração de estresse, além de exames laboratoriais para determinação dos níveis de corticosterona no sangue e nas fezes (38, 39), o leucograma demonstra que o aumento dos níveis de glicocorticoides está associado com a heterofilia e linfopenia (40, 41), de forma que a relação entre heterofilo/linfócito revela que quanto maior este valor, menor o bem estar do animal e maior o estresse (42), também se utiliza a observação comportamental à procura de sinais de excitação psicológica ou desconforto tais como, regurgitação voluntária do alimento, esconder a cabeça e disparo de mordidas ou picadas (13, 33), anorexia, mudança de comportamento, estereotipias, agressividade (43).

Algumas medidas preventivas podem ser adotadas neste tipo de ambiente como a redução do manejo e a limpeza de caixas destes animais além do aumento dos intervalos de extração de veneno (44, 45).

Face ao prognóstico desfavorável e à ineficácia dos tratamentos disponíveis, a prevenção é a principal medida de controle das consequências danosas do estresse e da Síndrome da Má Adaptação (46). Como prevenção, pode-se aplicar o enriquecimento ambiental, que é um conjunto de modificações ambientais que busca contemplar as necessidades etológicas dos animais cativos, para alcançar o bem-estar psíquico e fisiológico dos mesmos (35).

2.2.3. Parasitoses

Os répteis podem abrigar uma grande variedade de endoparasitas e ectoparasitas. Quando a carga parasitária se torna elevada, o organismo pode ficar comprometido como um todo, tanto pelos oocistos, estágios larvais ou adultos do parasita. Em seu ambiente natural, muitos dos problemas parasitários são autolimitantes. Entretanto, no cativeiro, os fatores estressores podem afetar o sistema imunológico e desequilibrar a relação parasita-hospedeiro (47). Os potenciais fatores estressores são a fome, a superpopulação, as negligências, más condições sanitárias, baixas temperaturas e a introdução de indivíduos enfermos predispondo aos efeitos nocivos do parasitismo. A partir daí a microflora natural pode morrer e microrganismos que até então eram benignos e estavam em baixa prevalência multiplicam-se e começam a causar efeitos deletérios no animal (48). McFarlen 1991 (49) afirmou ainda que, como em qualquer animal, a susceptibilidade à doença causada por parasitismo também é relacionada a doenças concomitantes, disponibilidade de hospedeiros intermediários, estado nutricional e idade do hospedeiro. Além disso, o cativeiro concentra grande número de parasitas provendo condições e microhabitats favoráveis, que deixam o réptil susceptível (4). Todos estes fatores suprimem a resposta imunológica e possibilita o aparecimento de enfermidades causadas por vírus, bactérias, fungos e leveduras, contaminando outros animais inclusive o homem (50).

2.2.3.1. Ectoparasitoses

Um dos problemas mais frequentes em serpentários é a infestação de ectoparasitos, dentre os quais se destacam os carrapatos e ácaros (2). Os carrapatos fixam-se entre as escamas, na cavidade ocular, periocular, regiões lateral e dorsal do corpo, especialmente no terço anterior da serpente. Algumas espécies injetam toxinas, através de sua saliva, que afetam o metabolismo do hospedeiro causando debilidade, decréscimo do hematócrito, paralisia e mesmo óbito (51, 52). Pertencente à família *Ixodidae*, a espécie partenogenética *Amblyomma rotundatum* (53) é frequentemente encontrada

em animais recém-capturados de vida livre e cuja infestação causa danos à pele do animal e anemia, além de ser vetor de vírus e hemoparasitas como o *Hepatozoon* sp. (54, 55, 56). As espécies *Amblyomma dissimile* (57) e *Amblyomma fuscum* também já foram associadas com répteis no nordeste do Brasil (58, 59, 60). A espécie *A. dissimile* pode transmitir nematódeos e filarídeos dos gêneros *Oswaldofilaria*, *Foleyella* e *Macdonaldius*, que causam dermatite vesicular ou necrosante além de anemia (61). Geralmente possuem ciclo biológico dioxênico, ou seja, dois hospedeiros (62).

Os principais sinais clínicos de ectoparasitismo por carrapatos em répteis são: regurgitação, diarreia, desidratação/edema generalizado, fraqueza, disecidise, anemia, congestão oral, descarga oral e nasal, exsudato caseoso, dermatite, abscesso cutâneo, anorexia e ocasionalmente óbito (62). O tratamento consiste em remover delicadamente os carrapatos das escamas, com a ajuda de uma pinça, para que a peça bucal não permaneça no local. Após a retirada, uma pomada antibacteriana de amplo espectro deve ser aplicada. Outros métodos consistem em aplicação de permetrina, ivermectina e como prevenção, quarentena de animais recém-chegados, limpeza sistemática de caixas e salas (63).

Há também o ácaro hematófago *Ophionyssus natricis*, pertencente à família Macronyssidae, que causa infestações graves, especialmente nas épocas mais quentes do ano quando sua taxa de locomoção está aumentada (64), esta espécie de ácaro se reproduz em grande velocidade e causa infestações de difícil controle sanitário em serpentários científicos (2, 51, 55, 65), provocando disecidise, anemia e debilitando o animal, além de ser vetor da bactéria Gram-negativa *Aeromonas hydrophila*, que causa pneumonia e sepse hemorrágica. Indivíduos jovens são mais susceptíveis de desenvolver anemias por infestação destes ácaros (55, 66). Existe a suspeita de transmissão de enfermidades virais como a paramixovirose ofídica (OPMV) e a inclusion body disease (IBD) (67), porém ainda não comprovadas de fato.

Serpentes com necessidade de alta umidade relativa, como os boídeos, predizem maior risco de infestação, pois o *O. natricis* prospera bem neste tipo de ambiente. O tratamento se torna difícil, pois se deve levar em consideração que o ácaro não fica apenas no hospedeiro, mas também no ambiente ao redor do mesmo como em tampa de caixas, quinas e cantos de parede. O tempo de

evolução de ovo até o adulto é de duas semanas. Além disso, conseguem viver até 45 dias sem sangue, portanto, apenas não ver o parasita não quer dizer que o ambiente está livre, pois estes mesostigmatídeos possuem grande potencial reprodutivo, podendo recorrer no ambiente até dois meses após o tratamento. (68). Dentre os possíveis tratamentos citados na literatura: água, azeite de oliva, fipronil, trichlorfon, organofosforados (dichlorvos), piretróides, piretrinas, ivermectina (63).

2.2.3.2. Endoparasitoses

As serpentes são susceptíveis a uma ampla variedade de endoparasitas, em especial os do trato gastrointestinal, que incluem nematódeos, cestódeos, trematódeos e protozoários (69, 70), o que se torna um desafio aos criadouros (71). Sugere-se que este fato esteja relacionado ao hábito de dardejar das serpentes, facilitando a transmissão destas parasitoses (72). Esses animais tendem a apresentar parasitismo oligossintomático em seu habitat natural, e doença sintomática devido ao parasitismo raramente é encontrada (73). No Brasil existem 40 espécies de nematódeos, 10 de cestódeos e 44 de trematódeos que parasitam serpentes (74).

Os nematódeos são os parasitas de maior prevalência (71, 73, 75) encontrados no sistema digestivo de serpentes e geralmente causam anorexia com consequente perda de peso, diarreia com presença de muco e/ou sangue (10). Dentre os parasitas mais relatados estão os ascarídeos, ancilostomatídeos, oxyurídeos, filarídeos, e espirurídeos (56). Dentre os gêneros mais prevalentes que parasitam serpentes: *Kalicephalus* sp., *Serpentirhabdias* sp. (= *Rhabdias* sp.) (73, 76, 77, 78), *Ophidascaris* sp. (79) além de *Strongyloides* sp. (73).

Os parasitas do gênero *Kalicephalus* (Diaphanocephalidae) são hematófagos e ficam aderidos ao lúmen do órgão ou à mucosa do tecido, possuem ciclo biológico direto e sua transmissão ocorre por meio da ingestão de água e alimentos contaminados com ovos ou via percutânea (80). Já o gênero *Serpentirhabdias* (Rhabditoidea) é amplamente distribuído, ocorrendo nas regiões tropicais e temperadas e é o principal nematódeo parasita de pulmões de anfíbios e serpentes (81). Possui ciclo de vida direto e altera as

fases de vida livre no solo e parasitária com fêmeas partenogênicas. A infecção ocorre por via percutânea ou ingestão de água e alimentos contaminados (82) e os sinais clínicos no hospedeiro incluem inflamação da cavidade oral, acúmulo de exsudato ao redor da glote, pneumonia por infecções bacterianas secundárias (82, 83, 84). O gênero *Strongyloides*, também membro da superfamília Rhabditoidea, possui ovos larvados que são indistinguíveis dos ovos larvados de *Serpentirhabdias* quando observados no exame coproscópico (80). Sua forma de infecção é a mesma do gênero *Serpentirhabdias* (82).

O gênero *Ophidascaris* possui ciclo heteroxênico, utilizando invertebrados, anfíbios e roedores como hospedeiros intermediários e/ou paratênicos (85). As larvas podem provocar lesões devido à sua migração pelas vísceras do hospedeiro e os adultos, que se encontram no trato gastrointestinal, causam obstrução e perfuração intestinal (69). Produzem ovos de casca grossa os quais são eliminados juntamente com as fezes do hospedeiro (48).

Os gêneros de cestódeos encontrados em serpentes brasileiras são: *Ophiotaenia*, *Proteocephalus* e *Crepidobothrium*, sendo este último o mais encontrado relatado na literatura (86).

São encontrados 44 espécies de trematódeos que parasitam répteis, com um ciclo de vida heteroxênico que utiliza moluscos como hospedeiros intermediários (73).

Dentre os protozoários gastrointestinais mais comuns em répteis se destaca o *Cryptosporidium* sp., um coccídeo pertencente ao filo Apicomplexa (87). É considerado parasita intracelular, porém extracitoplasmático, monoxênico, completa seu ciclo biológico na superfície de células epiteliais dos tratos gastrointestinal, respiratório e urinário de mamíferos, aves, répteis e peixes (88). O ciclo biológico deste protozoário inicia-se com a eliminação de oocistos esporulados de um hospedeiro infectado, por meio de fezes ou secreções respiratórias; o hospedeiro susceptível se infecta pela ingestão de oocistos presentes na água, alimentos e em menor escala por inalação de oocistos em suspensão (89). A criptosporidiose apresenta curso crônico e caracteriza-se por: anorexia, regurgitação pós-prandial, letargia, aumento de volume na região gástrica e perda de peso (11).

Para a confirmação da presença de parasitas podemos realizar o exame clínico geral, para visualizar ectoparasitas como carrapatos e ácaros, ao passo que para a confirmação de endoparasitas como nematódeos, cestódeos, trematódeos e protozoários, é necessário utilizar métodos coproparasitológicos divididos em: métodos não invasivos, onde os ovos, oocistos e larvas são visualizados ao microscópio e invasivos onde ocorre dissecação do intestino ou outro tecido após eutanásia. Devido ao amplo espectro de estágios de vida e localização no tecido do hospedeiro, os métodos de análise não invasiva devem ser selecionados de acordo com o objetivo do estudo (90). Dentre os procedimentos não invasivos, os métodos de rotina de flutuação podem utilizar NaCl, ZnSO₄ ou solução supersaturada de açúcar para diagnóstico de infecção parasitária (91, 92, 93)

Deve-se ter cautela ao interpretar os resultados, pois a presença de ovos de parasitos nas fezes pode representar infecções tanto dos ofídios quanto dos animais oferecidos como alimento, os chamados pseudoparasitas (94). Além do exame coproparasitológico, a realização do exame necroscópico permite a visualização do parasita adulto, fechando-se o diagnóstico se o ofídio faz parte ou não do ciclo do parasita (95).

2.2.3.3. Hemoparasitoses

As hemoparasitoses em répteis são causadas por protozoários, vírus e estruturas de classificação incerta. Os hemoprotozoários mais comuns são: hemogregarinas, tripanossomas, microfilárias, piroplasmídeos e plasmódios, todos do filo Apicomplexa, subclasse Coccidiasina (96, 97). Em geral, não são consideradas patogênicas, mas têm a habilidade de provocar resposta inflamatória significativa em hospedeiros não naturais (98, 99, 100). As espécies patogênicas são associadas à anemia hemolítica ou outra enfermidade clínica, particularmente quando o estresse é um fator associado (101). O termo hemogregarina é utilizado para descrever a variedade morfológica similar de quatro diferentes gêneros mais encontrados em répteis: *Haemogregarina*, *Haemolivia*, *Hepatozoon* e *Karyolysus* (96). Uma classificação apropriada é baseada apenas na observação dos oocistos no hospedeiro final que é invertebrado, já que nos esfregaços sanguíneos dos

répteis (hospedeiros intermediários) usualmente são classificadas apenas como hemogregarinas (102). Alguns invertebrados já foram descritos como hospedeiros definitivos: carrapatos, mosquitos, moscas, piolhos, pulgas e sanguessugas (103, 104, 105).

Para identificação do parasita no esfregaço vale a pena ressaltar seu formato de “salsicha” com citoplasma de púrpura a pálido e apenas um núcleo excêntrico escuro. Tanto a morfologia da célula do hospedeiro quanto seu núcleo parecem alterados. Mais de um organismo pode ser encontrado na mesma célula (100), geralmente um eritrócito e raramente um leucócito (96). Estudos no Brasil relataram a presença de hemogregarinas, especialmente o gênero *Hepatozoon*, em algumas espécies de serpentes: *Eunectes murinus*, *Boa constrictor*, *Drymobius bifossatus*, *Coluber corais*, *Spilotes pullatus*, *Xenodon neuwiedi*, *Philodryas olfersi*, *Heterodryas carinatus* *Crotalus durissus terrificus* e algumas espécies de *Bothrops* sp. (106, 107). Não existe relato de tratamento efetivo para as hemogregariníases (97).

2.2.4. Paramixovirose

A paramixovirose é caracterizada como enfermidade causada pelo vírus envelopado do tipo RNA Ophidian Paramyxovirus (OPMV). Acomete primariamente o sistema respiratório podendo envolver também o sistema nervoso, sendo descrita em colubrídeos, elapídeos, viperídeos, bóideos e pitonídeos (108). Os primeiros relatos são de 1972, em um serpentário particular na Suíça, em epizootia respiratória causada por um vírus do tipo paramixo em *Bothrops atrox* (109). Desde sua primeira descrição, o OPMV tornou-se um importante patógeno, especialmente para viperídeos, sendo descrito casos nos EUA, Alemanha, México, Argentina (5) e Brasil (110, 111). Os sinais clínicos variam muito e não são patognomônicos, dificultando o diagnóstico clínico. São eles: secreção hemorrágica nas narinas e traqueia, pneumonia, estridor respiratório, opistótono, paralisia flácida, tremores de cabeça, alterações de propriocepção, postura corporal anormal, anorexia/regurgitação, diarreia mucoide com mau odor, letargia e morte súbita. Alterações patológicas na necropsia são observadas principalmente no trato respiratório (111, 112, 113, 114, 115, 116). Nesta enfermidade, os sinais

clínicos se dividem em três categorias: Agudo e Hiperagudo, em que o animal vai a óbito sem sinais evidentes e antes mesmo de se ter uma resposta humoral. Doente Crônico, no qual os animais exibem sinais de debilidade e em geral apresentando títulos elevados de anticorpos e Animais Clinicamente Saudáveis, sendo estes assintomáticos por mais de 10 meses. Alguns destes podem se tornar Doentes Crônicos (117). Sabe-se que as famílias Filoviridae (vírus do Ebola), Paramyxoviridae (OPMV) e Rhabdoviridae (vírus da raiva) estão geneticamente relacionados, e podem tornar os hospedeiros naturais sorologicamente positivos sem se comprovar a presença do vírus pelo teste do PCR (118, 119).

O vírus é facilmente transmitido por aerossóis e contato direto, secreções respiratórias, fômites e ectoparasitas como carrapatos (120). As excretas do trato digestivo também são uma possibilidade de contágio, sendo que, em animais contaminados com acesso a fontes de água, o vírus pode persistir no local por consideráveis períodos de tempo (5). Sugere-se que a infecção por paramixovirus causa depleção linfóide, permitindo a entrada de bactérias, especialmente Gram-negativas (114, 121).

A replicação do vírus *in vitro* demonstrou ser temperatura dependente, apresentando temperatura ótima de 30°C, com uma variação de 23°C a 32°C para o crescimento. Existe a possibilidade de uma infecção latente se tornar ativa, se as serpentes forem submetidas a baixas temperaturas ambientais devido à baixa de imunidade, o que justifica a grande quantidade de surtos ocorridos nas épocas mais frias do ano ou logo após a hibernação de algumas espécies (5). Não há tratamento específico ou vacinas disponíveis no mercado para esta doença (117, 122, 123), sendo promovido apenas o uso de antibióticos de amplo espectro para aumentar a sobrevivência dos animais positivos às infecções secundárias causadas por bactérias e protozoários (114,124).

A prevenção se caracteriza pelo período de quarentena de animais recém-chegados, com período de tempo variando de 30 dias a seis meses (7, 12, 110, 113, 124, 125, 126). Para um diagnóstico presuntivo pode-se trabalhar com isolamento viral em amostras de tecidos (12, 125); por meio da microscopia eletrônica (127); teste de hemaglutinação (128); teste de inibição de hemaglutinação (HI) (112, 129, 130); imunohistoquímica (131, 132); ensaio

imunoenzimático ELISA com bloqueio na fase líquida (133) ou por reação em cadeia da polimerase (PCR) (132).

2.3. Hematologia de serpentes

O volume de sangue total em répteis varia de 5 a 8% do total do peso corpóreo. Deste volume, 10% podem ser coletados com segurança para análise hematológica do sangue periférico (134).

As células do sangue dos répteis são compostas por eritrócitos, trombócitos, e leucócitos, sendo este último classificado em granulócitos (heterófilos, eosinófilos, basófilos) e células mononucleares (linfócitos, monócitos e azurófilos), variando em número e morfologia de grânulos, padrões de coloração citoquímica e concentração no sangue periférico de acordo com espécies e gêneros (135). Os eritrócitos nos répteis possuem função similar a dos mamíferos (carrear moléculas de oxigênio e dióxido de carbono), com uma diferença na presença de núcleo, fato comum a aves, peixes ósseos e anfíbios. Seu núcleo está centralmente posicionado, com formato irregular a elíptico e com uma cromatina condensada e fortemente basofílica (136). Possuem tempo de vida de 600 a 800 dias, e sua quantidade no animal pode variar sob influência das condições ambientais, estado reprodutivo, estação do ano e nutrição (136). A contagem total de eritrócitos em serpentes varia de 700.000 a 1.600.000/ μL . (138, 139)

Os trombócitos, também nucleados, possuem papel importante na homeostasia e na cicatrização de feridas, assim como as plaquetas em mamíferos. A presença de trombócitos imaturos no esfregaço sanguíneo representa uma resposta regenerativa. Trombocitopenias em répteis frequentemente estão associadas à utilização periférica excessiva de trombócitos ou declínio na produção dos mesmos. Trombócitos com núcleos polimórficos são considerados anormais e associados à severa inflamação (140).

Os heterófilos dos répteis, assim como os das aves, possuem função similar aos neutrófilos nos mamíferos, envolvidos na destruição de microrganismos fagocitados. Têm importante papel na imunidade inata em resposta a diversos estímulos inflamatórios (141). Podem representar até 40%

dos leucócitos, e são influenciados pela sazonalidade (142). Possuem grânulos angulares, pleomórficos e envoltório denso (136). Seu aumento está relacionado com enfermidade inflamatória (especialmente por bactérias e parasitas) ou lesão tecidual. Além destes, condições não inflamatórias como estresse, neoplasia e leucemia heterofílica podem causar heterofilia.(142).

Os eosinófilos possuem um citoplasma claro com grânulos róseos. Seu núcleo é central ou excêntrico, de formato redondo, oval, alongado ou bilobado (143). As taxas normais de eosinófilos circulantes é bastante variável, sendo influenciados pela sazonalidade. A eosinofilia está relacionada infecções parasitárias (helmintos e protozoários) e estimulação do sistema imune (140).

Os basófilos possuem contagem de 0 a 40% das células brancas. Como em outras espécies, contêm numerosos pequenos, redondos, grânulos de cor púrpura escura que muitas vezes obscurecem em torno do núcleo (142). Assim como nos mamíferos, possuem imunoglobulinas de superfície e liberam histamina por degranulação. Basofilia está envolvida com infecções parasitárias (como a presença de hemogregarinas e tripanossomas) e viral (iridovirus por exemplo) (142).

A taxa de linfócitos pode chegar a 80% na diferencial de leucócitos, e assim como as demais células brancas nos répteis, altamente influenciada pela sazonalidade e o ambiente, além do sexo do animal, onde fêmeas de algumas espécies apresentam valores mais altos. Divididos em linfócitos-B e T, estão envolvidos com uma variedade de funções imunológicas. A linfopenia é associada com má nutrição ou secundária a enfermidades causadas por estresse e imunossupressão. Por outro lado, a linfocitose está relacionada a cicatrização, doença inflamatória e infecções parasitárias (hematozoários ou mesmo parasitas intestinais) e virais (140).

Os monócitos geralmente ocorrem em baixa quantidade, variando de 0 a 10% no diferencial de leucócitos, possuindo característica citoplasmática azurofílica (frequentemente chamados de azurófilos) e função fagocitária. A sazonalidade também a influencia, sendo a monocitose sugestiva de doença inflamatória, especialmente inflamação granulomatosa, participando de interações de imunoglobulinas antígeno-específicas especialmente as que envolvem a IgM e IgY. (140, 142). Os monócitos se desenvolvem em macrófagos quando deixam o sangue periférico para penetrar em tecidos. São,

portanto, essenciais para a formação de granuloma e célula gigante, uma resposta comum a infecções microbianas em répteis (145).

A hematologia é utilizada para avaliar-se o número de células da série vermelha e sua morfologia, hematócrito, concentração de hemoglobina e índices eritrocitários, além da contagem de células brancas e seu diferencial. O microhematócrito é uma técnica manual e complementar ao hemograma que permite mensurar o volume que os eritrócitos ocupam em um determinado volume de sangue total. Seus valores de referência variam entre 20% e 35%, devendo cada caso ser avaliado individualmente (137). Através desta técnica é possível diagnosticar anemias provocadas por sangramento ou deficiência de ferro, ou mesmo policitemias resultantes de desidratação (100). Uma boa caracterização da anemia em um réptil doente pode determinar qual ferramenta diagnóstica deve ser utilizada para determinar a causa da diminuição da contagem de células vermelhas nestes animais. Geralmente a anemia é um sinal ou manifestação associada a uma enfermidade e que pode ter uma etiologia traumática, degenerativa, inflamatória, neoplásica, tóxica, metabólica, nutricional ou infecciosa (146, 147). As anemias podem ser classificadas em: 1) regenerativas, quando a medula óssea mantém sua função hematopoiética (por exemplo, hemorragias, hemólises) e o paciente é capaz de produzir e liberar eritrócitos recém-formados, e 2) não regenerativa, quando não há novas células vermelhas formadas ou liberadas dos sítios hematopoiéticos (66).

O esfregaço sanguíneo é parte essencial do hemograma tanto para contagem diferencial de leucócitos quanto para avaliação da morfologia celular, além de detectar sinais de regeneração, resposta inflamatória, toxicoses e a presença de hemoparasitas. A lâmina deve ser preparada com sangue fresco recém-coletado e sem anticoagulantes para evitar artefatos provenientes dos mesmos. (100)

Embora os valores de referência publicados estejam disponíveis para um número de espécies de répteis, é importante lembrar que tanto fatores intrínsecos como espécie; sexo; idade; estado fisiológico; estado reprodutivo; quanto os fatores extrínsecos como estação do ano; temperatura; condições ambientais; manejo; dieta podem causar variações significativas nos parâmetros hematológicos. A melhor abordagem para uma boa avaliação é obter valores de referência *in situ* do mesmo indivíduo, coletando e analisando

suas amostras pelo menos duas vezes ao ano (66). As diferenças nos resultados de hemogramas de répteis saudáveis de cativeiro comparados com répteis de vida livre recém-capturados, da mesma espécie, são atribuídas à ecto e hemoparasitas nos animais de vida livre e ao estresse e manejo nos animais de cativeiro (148).

A interpretação de dados hematológicos ainda é um desafio em répteis quando comparados aos animais domésticos devido ao baixo número de trabalhos nesta área e a divergência de valores de referência para a maioria das espécies. Esta variabilidade nos parâmetros hematológicos está envolvida com as diferentes condições fisiológicas e adaptações ao ambiente destes animais, dificultando o estabelecimento de um diagnóstico clínico (100).

2.4. Provas bioquímicas do sangue

Os parâmetros bioquímicos proporcionam informações acerca do funcionamento hepático e renal, metabolismo e fisiologia geral dos animais (149), porém, é bastante variável, pois são dependentes da espécie estudada, ambiente, sazonalidade e influências hormonais. Uma resposta inflamatória pode estar associada a vários fatores como agentes patológicos, corpos estranhos, neoplasia, traumas e intoxicações, devendo cada população ser avaliada individualmente (137). Além de contribuir para o conhecimento da fisiologia das espécies de répteis, a determinação de parâmetros bioquímicos de uma população saudável mantida em cativeiro é fundamental para o manejo de um serpentário, servindo de indicador de saúde dos animais (150).

Dentre as provas bioquímicas mais utilizadas temos a albumina, proteínas totais, ácido úrico e aspartato aminotransferase (AST). A albumina é uma proteína que está fortemente ligada ao estado nutricional dos animais. Seu decréscimo está associado à prolongada anorexia, perda de proteínas por enteropatias, enfermidades hepáticas ou renais crônicas. Seu aumento normalmente está relacionado à desidratação. Em répteis os valores deste parâmetro variam de 1.0 a 3.5 g/dL (151).

As proteínas plasmáticas totais em répteis variam de 3 a 7g/dL. Valores menores que estes sugerem hipoproteinemia, fato que pode estar relacionado

à perda excessiva de sangue por traumas ou mesmo parasitismo, má nutrição, deficiência absorção de nutrientes, enteropatias, enfermidades hepáticas ou renais crônicas (143).

A concentração de ácido úrico revela o produto final de catabolismo das purinas e proteínas visto que as serpentes o excretam na forma de cristais (ácido úrico solúvel) para conservação de água no corpo, tendo assim função no balanço hídrico no organismo (152). A concentração deste metabólito aumenta logo após a alimentação, voltando à normalidade logo após a digestão do alimento (153). A bioquímica do sangue para detectar doença renal em répteis é mais difícil do que em mamíferos pela própria diferença fisiológica de seus rins, sendo considerado normal a concentração de ácido úrico de até 10 mg/dL. Valores acima deste podem estar associados à enfermidade renal causada por bacteremia, septicemia, nefrocalcinose, e nefrotoxicidade. A hiperuricemia também pode estar associada perda de função renal, gota úrica e ingestão de altas concentrações de proteínas na dieta. Gota úrica primária é uma enfermidade resultante de produção exacerbada de ácido úrico. Gota úrica secundária geralmente está ligada à enfermidade que interfere na produção e excreção normal de ácido úrico e a qual algumas condições estão associadas como inanição por tempo prolongado, doença renal causada por drogas nefrotóxicas (dano tubular), desidratação severa e dieta com quantidades excessivas de purinas (140).

A aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima encontrada no fígado, músculo esquelético e miocárdio. Seu aumento no organismo sugere injúria hepática ou muscular. Em geral sua concentração no plasma é de até 250 U/L. (140).

2.6. Estudos prévios no CEVAP

Em 2002 ocorreu um surto de paramixovirose no CEVAP onde Nogueira e colaboradores (111) isolaram o OPMV em uma *C. durissus terrificus*, que apresentava sinais de pneumonia. A metodologia realizada foi por teste de hemaglutinação, PCR e *Nested* PCR.

Também em 2002 Moço e colaboradores (107) realizaram a identificação e caracterização morfológica de 5 espécies de *Hepatozoon* com enfoque nas serpentes de vida livre que chegavam ao Centro.

Em 2007 Silva e colaboradores (154) analisaram a frequência de *Serpentirhabdias* sp. (= *Rhabdias* sp.), um parasita pulmonar, em cascavéis recém-chegadas, onde concluiu-se que em animais de vida livre há altas taxas de infecção.

Já em 2009, Ferreira Junior e colaboradores (155) compararam a microbiota da cavidade oral, cloaca e do veneno de *C. durissus terrificus* de cativeiro e de vida livre, onde se concluiu que os animais que estavam alojados no serpentário semiextensivo do CEVAP possuíam o menor número de microrganismos na cavidade oral, provavelmente pelas condições oferecidas neste tipo de cativeiro, como acesso à luz solar, possibilidade de movimentação, circulação de ar, diferença de gradientes de temperatura e menor manipulação.

Campagner e colaboradores (8) em 2011 avaliaram as questões sanitárias do CEVAP, chegando à conclusão que o sistema de cativeiro semiextensivo foi o mais eficiente no que diz respeito às baixas taxas de mortalidade, em relação ao cativeiro intensivo. O estudo deu enfoque à infraestrutura e à identificação de patógenos bacterianos, como bacilos gram negativos da família Enterobacteriaceae, e patógenos fúngicos como o *Trichosporon* sp.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Reavaliar o procedimento operacional padrão implantado em 2011 no Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos da UNESP (CEVAP), bem como diagnosticar as principais enfermidades que atingem o plantel por meio de exames clínicos e laboratoriais, além de descrever as dificuldades encontradas no serpentário, abordando as causas e soluções, a fim de desenvolver a saúde e o bem estar das serpentes.

3.2. Objetivos específicos

- Descrever a estrutura física dos diferentes locais do serpentário e avaliar as condições do ambiente onde os animais estão alojados.
- Avaliar as condições clínicas das serpentes.
- Avaliar os dados de longevidade e mortalidade entre os gêneros de serpentes estudados.
- Verificar a presença de ectoparasitas.
- Verificar a presença de ovos e oocistos de endoparasitas.
- Realizar exames hematológicos e bioquímicos.
- Realizar a pesquisa de anticorpos contra o paramixovírus ofídico (OPVM).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Infraestrutura

As atuais instalações dos serpentários do CEVAP são constituídas de um serpentário de manejo semiextensivo e um intensivo, sendo este último dividido em triagem e quarentenários, serpentário interno e um museu de visitação. Todos os ambientes possuem pedilúvio composto por glutaraldeído e cloreto de alquil dimetil amônio, Glutasil®, diluído em água para higienização dos calçados. Os ganchos herpetológicos ficam mergulhados em Biofor® um composto a base de Complexo de Iodophor também diluído em água, os quais são higienizados no uso entre um animal e outro.

4.1.1. Serpentário de Manejo Intensivo

4.1.1.1. Triagem e Quarentenários

A sala de Triagem é localizada junto aos Quarentenários e apresenta piso frio, azulejos até o teto e bancadas de granito que permitem serem lavadas com facilidade. Os Quarentenários são divididos em Quarentena 1 (Q1) e Quarentena 2 (Q2). As salas são revestidas com piso frio e azulejos até o teto, para facilitar a limpeza do local. A temperatura é mantida por meio de aquecedores externos (resistência cônica 220 V). Nestas salas as serpentes são mantidas em estantes de aço, individualizadas em caixas de polipropileno de tamanhos que variam entre 45 x 32 x 28 cm, 34 x 22 x 12 cm e 56 x 37 x 24 cm (comprimento x largura x altura), dependendo do tamanho do animal. Na chegada à quarentena são realizados os seguintes procedimentos: exame clínico, biometria, registro e tratamento anti-helmíntico com ivermectina (Ivomec®), e banho com triclorfós (Neguvon®). A seguir, quando na quarentena 1 (Q1), ficando 30 dias em observação. Transcorrido este tempo, as serpentes são encaminhadas para quarentena 2 (Q2) para mais 30 dias de observação antes de serem introduzidas definitivamente no plantel (figuras 1 A e B).



Figura 1. A – Triagem; **B** – Quarentena 1

4.1.1.2. Salas dos gêneros *Crotalus* e *Bothrops*

Constituído de duas salas, uma para serpentes do gênero *Bothrops* e uma para gênero *Crotalus*. Possuem piso frio e azulejos até o teto, de fácil lavagem. A temperatura do local é mantida por aquecedores externos (resistência cônica 220 V). As serpentes são mantidas em estantes, acondicionadas em caixas de polipropileno, individualmente. As caixas variam de 45 x 32 x 28 cm, 34 x 22 x 12 cm e 56 x 37 x 24 cm (comprimento x largura x altura), dependendo do tamanho do animal (figuras 2 A e B).

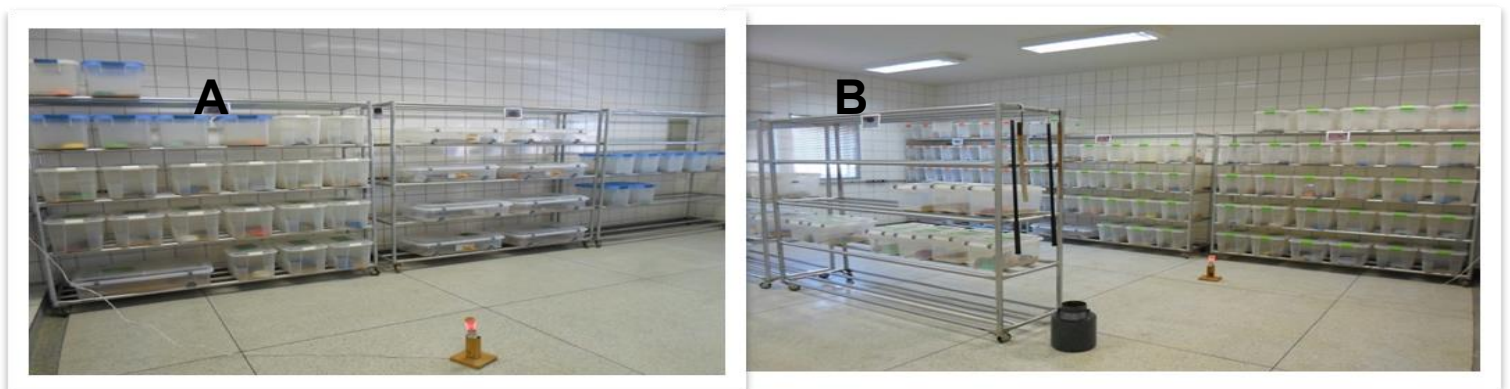


Figura 2. A – Sala do gênero *Crotalus* sp; **B** – Sala do gênero *Bothrops* sp.

4.1.1.3. Serpentário Intensivo – Museu de visitação

A área destinada ao manejo dos animais de exposição no Museu se divide em trinta baias individuais, das quais vinte e oito medem 100 x 100 x 200 cm e duas 170 x 100 x 200 cm (comprimento x largura x altura), para os animais maiores (figuras 3A e 3B).

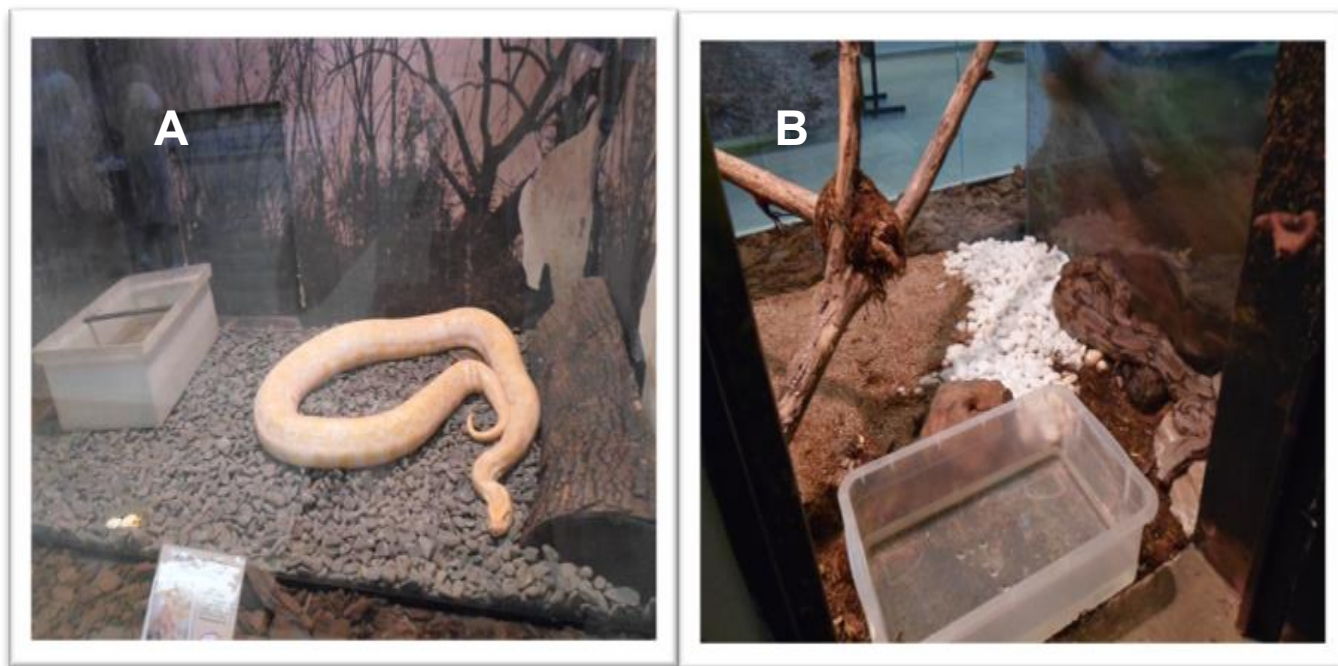


Figura 3. **A** - Baia individual com *Python molurus bivittatus*; **B** – baia individual com *Boa constrictor amarali*.

4.1.2. Serpentário de Manejo Semiextensivo

O serpentário semiextensivo, também chamado de cativeiro coletivo ou baia externa, é composto de oito recintos, sendo seis ocupados por em média 50 serpentes em cada e dois reservados para rodízio no controle sanitário. Os recintos são divididos em área externa (5,5 x 3,1 m) e interna (5,5 x 2,2 m) (altura x largura). A área externa é constituída de alvenaria, com muros lisos de 1,5 m de altura e cobertura em tela metálica, forrados com grama, bebedouro com água corrente (1,3 x 0,56 m) e abrigo de telhas de fibrocimento (2,8 x 1,2 m). A área interna é de cimento, forrada com maravalha, além de possuir aquecedores (2,0 m x 0,3 m) contendo quatro lâmpadas de 60 W cada. Essas

duas áreas são conectadas por meio de uma porta que pode ser trancada durante a manutenção dos animais (figuras 4 A e B).

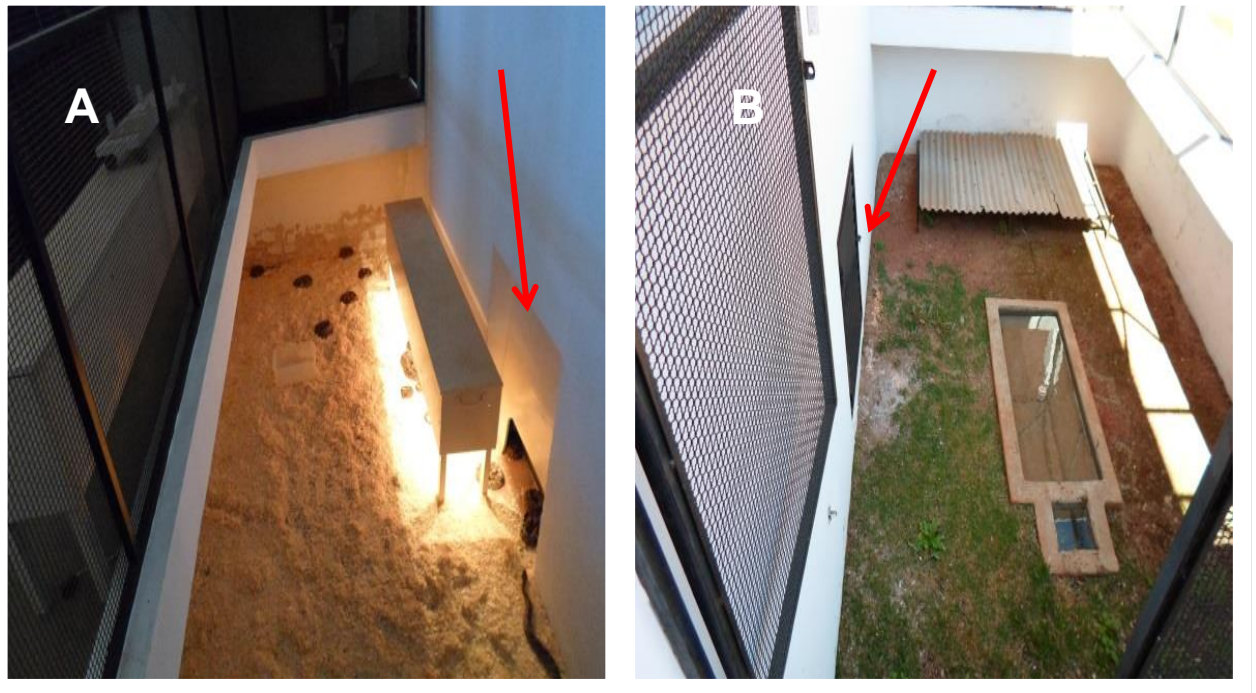


Figura 4. **A** – Cativeiro de manejo semiextensivo com parte interna com aquecedor; **B** - parte externa com porta (seta) de livre acesso aos animais da espécie *Crotalus durissus terrificus*.

4.2. Animais e delineamento experimental

Esse projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, em 27/09/2012, com número de protocolo CEEA 966/2012.

As serpentes alojadas tanto no serpentário de manejo semiextensivo quanto no intensivo têm acesso à água *ad libitum* e são alimentadas mensalmente com *Mus musculus* e *Rattus norvegicus*, provenientes do biotério do próprio CEVAP, de acordo com o tamanho da serpente. As serpentes alojados na quarentena são desverminadas no momento da triagem com ivermectina (Ivomec®) na dose 0,2 mg/kg e recebem banho ectoparasiticida com triclorfon (Neguvon®). As alojadas no plantel estável recebem tratamento anti-helmíntico a cada seis meses.

Para esta pesquisa foram selecionadas 42 serpentes, com no mínimo um quilo de peso corpóreo, distribuídas aleatoriamente entre os setores do serpentário de manejo intensivo: quarentenários, salas dos gêneros *Crotalus* e *Bothrops* e museu de visitação além do serpentário de manejo semiextensivo. Dentre as espécies selecionadas: 1 exemplar de *Bothrops moojeni*, 6 de *Bothrops alternatus*, 2 *Bothrops jararacussu*, 27 *Crotalus durissus terrificus*, 2 *Python molurus bivittatus*, 1 *Boa constrictor amarali*, 1 *Eunectes murinus*, 1 *Eunectes notaeus* e 1 *Hydrodynastes gigas*. Todas foram avaliadas individualmente utilizando uma ficha de identifica o padrão (figura 5).

FICHA DE IDENTIFICA O

SERPENTÁRIO: _____

ANIMAL _____

ESPÉCIE: _____

RG: _____ CHIP: _____

SEXO: _____

PESO: _____

COMPRIMENTO TOTAL: _____ COMPRIMENTO CAUDAL: _____

ÚLTIMA ALIMENTA O: _____ OBS: _____

ÚLTIMA EXTRA O DE VENENO: _____

ÚLTIMA DESVERMINA O: _____

DATA COLETA DE SANGUE: _____ I: _____

QUANTIDADE DE SANGUE COLETADO: _____

LOCAL DE ACESSO: _____

PROCEDIMENTO DE COLETA DE FEZES: _____

DATA DE COLETA DE FEZES: _____ I: _____

OUTRAS OBSERVA OES:

Figura 5. Ficha de identifica o individual das serpentes.

4.3. Avaliações clínicas e laboratoriais

4.3.1. Exame clínico

Os exames clínicos se iniciaram pela observação cuidadosa da cavidade oral, narinas, olhos, palpação da musculatura e pele, objetivando a busca de ectoparasitas, escore corporal, bem como qualquer aumento de volume que indicasse uma possível doença (156). De acordo com Meredith (2010) (156) o exame clínico de serpentes deve avaliar (figuras 6 e 7):

- Retenção de epiderme pelo corpo, incluindo olhos.
- Dobras de pele e costelas proeminentes, sugestivos de desidratação e má nutrição.
- Escamas ventrais em busca de pontos de descoloração, edemas ou ulcerações.
- Cavidades nas laterais dos processos espinais dorsais, indicando fratura de costelas, ocasionalmente observadas em animais recém-chegados de vida livre;
- As narinas, que devem estar limpas e livres de qualquer tipo de secreção;
- Na cavidade oral, observar se as membranas que devem ser de coloração rosa pálida, presença ou não de secreções na glote, presença ou não de edemas nas gengivas, hemorragias, exsudatos, estomatites.
- A cloaca deve estar desobstruída, com membranas de coloração rosa pálido sem indicações de processo inflamatório. Observar se existe edema na porção ventral da cauda, o que sugere infecções das glândulas de ferormônio.



Figura 6. Contenção de *C. durissus terrificus* para exame clínico com observação dos olhos, narina e cavidade oral.



Figura 7. Palpação durante exame clínico para observação da musculatura, escore corporal e presença de fraturas ou ectoparasitas em *C. durissus terrificus*.

4.3.2. Taxa de Mortalidade e Longevidade

A taxa de mortalidade foi calculada baseada na quantidade de animais que vieram a óbito em relação aos 42 selecionados ao início deste estudo. Já a longevidade com média e desvio padrão foi calculada em dias, para os gêneros e locais onde estavam alojados no serpentário e que vieram a óbito durante o experimento, contando desde sua data de entrada no CEVAP até o dia do óbito. Os gêneros *Bothrops* (serpentário intensivo) e *Crotalus* (serpentário semiextensivo), por serem os mais abundantes no experimento, foram calculados: a relação de longevidade pelo teste de Mann-Whitney e o tempo de vida (em dias) dentro do experimento, pelo teste de Log-Rank, com um intervalo de confiança (IC) de 95%. Todos os testes consideraram $p=0,05$.

4.3.3. Exames laboratoriais

4.3.3.1. Exames coproparasitológicos

Sendo o objetivo deste estudo manter os animais vivos, foram escolhidos métodos de análise parasitária não invasiva (90), onde foram colhidas as fezes de cada indivíduo, selecionando-se os métodos de Willis Mollay (1921) (157) e Centrifugação de Faust (1938) (158). Aqueles que vieram a óbito foram necropsiados.

4.3.3.1.1. Coleta das fezes

Os animais que permaneceram distribuídos individualmente em caixas de polipropileno, inicialmente, tiveram suas fezes (aproximadamente 5,0 g) recolhidas diretamente do papel craft que forrava a caixa.

Os animais que permaneceram em baias coletivas ou no museu de visitação foram submetidos ao enema para identificação de cada amostra e evitar perda de material por desidratação. Alguns animais que estavam em caixas de polipropileno, mas que tinham dificuldade para defecar, também foram submetidos a este processo. Para tanto, foram utilizadas pipetas Pasteur

descartáveis, introduzidas na cloaca de cada indivíduo e administrado suavemente aproximadamente 20 mL de solução salina esterilizada, retirava-se a pipeta, massageando o abdômen, com um tubo Falcon próximo à cloaca para coleta do conteúdo intestinal desses animais (156) (figura 8). As amostras foram então encaminhadas ao Laboratório de Enfermidades Parasitárias dos Animais na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ da UNESP de Botucatu.



Figura 8. Contenção física de *C. durissus terrificus* para administração de solução salina com pipeta Pasteur descartável.

4.3.3.1.2. Técnica de Flutuação (Willis Mollay, 1921)

Colocou-se de 2 a 5 gramas de fezes de cada animal em um copo e acrescentando-se 20 mL de solução hipersaturada de NaCl (densidade 1:1200). Filtrou-se a suspensão de fezes através de um tamis e gaze para outro copo. A mesma foi colocada em um tubo de filme, o qual estava dentro de uma Placa de Petri, completando-se o volume com a solução saturada de NaCl até formar menisco na borda do tubo. Foi colocada uma lâmina sobre o tubo, cuidadosamente para não formar bolha entre lâmina e a superfície do

líquido, e deixou-se em repouso por 15 minutos. Removida a lâmina, inverteu-se a sua posição rapidamente para evitar a queda dos ovos e logo após foi examinada ao microscópio com objetivas 10x e 40x.

4.3.3.1.3. Técnica de Centrifugo-flutuação (Faust, 1938)

Colocou-se de 2 a 5 gramas de fezes e misturou-se 10 mL de água. A suspensão foi filtrada através de um tamis para um copo e na sequência em um tubo Falcon de 15 mL para centrifugar. Descartou-se o sobrenadante e reteve-se o sedimento; foi adicionado água a este último e repetiu-se essa operação 2 a 3 vezes até o líquido sobrenadante ficar claro. O sobrenadante foi desprezado e o sedimento retido. Adicionou-se ao sedimento uma solução de sulfato de zinco até formar menisco na borda do tubo; colocando-se uma lamínula na borda do tubo ainda na centrífuga. Após este procedimento, colocou-se uma gota de lugol em uma lâmina e a lamínula da amostra sobre a mesma; examinando-se ao microscópio com objetivas 10x e 40x.

4.3.3.2. Exames hematológicos

4.3.3.2.1. Coleta de sangue

A coleta do sangue foi realizada por punção da veia caudal ventral com agulha hipodérmica 21G 0,8 x 25 mL, retirando-se 2,0 mL de amostra (Figura 9). Uma parte das amostras foi encaminhada para a FMVZ da UNESP, ao Laboratório Clínico Veterinário, para a realização do hemograma e exames bioquímicos, a saber: albumina, proteínas totais, ácido úrico e alanina aminotransferase (AST). A outra alíquota foi encaminhada para o Laboratório de Virologia do Instituto de Biociências de Botucatu (IBB), onde foi realizada a pesquisa de anticorpos contra o OPMV utilizando-se a técnica de ELISA.

Para a obtenção do hemograma, foi utilizada seringa previamente rinçada com heparina lítica e para os testes bioquímicos e ELISA com bloqueio de fase líquida foi utilizado sangue sem anticoagulante, ou seja, o soro.



Figura 9. Contenção física para coleta de sangue de *C. durissus terrificus* por veia caudal ventral.

4.3.3.2.2. Hemograma

Para a contagem das células, o sangue total em anticoagulante (heparina lítica) foi diluído em solução de azul de toluidina a 0,1% em proporção de 1:1001. Os eritrócitos, leucócitos e trombócitos foram contados separadamente na câmara de Neubauer em microscopia óptica e corrigidos com fator de correção. O exame morfológico e a diferenciação dos leucócitos foram realizados em esfregaço sanguíneo confeccionado com gota de sangue recém-coletada sem anticoagulante, fixados com metanol e corados com Wright. Para o hematócrito foi realizada a técnica do microhematócrito (159) e as proteínas plasmáticas totais medidas por refratometria.

4.3.3.3. Exames Bioquímicos

Para a realização dos testes bioquímicos, foi avaliado o soro de 42 animais, sendo utilizados kits comerciais Katal® para a dosagem de Proteínas Totais (Método colorimétrico do Biureto), Albumina (Método do Verde de Bromocresol), AST (Método Cinético UV) e Ácido Úrico (Método Enzimático Colorimétrico). Os testes seguiram o protocolo dos kits e a leitura foi realizada em espectrofotômetro semiautomático Cobas Mira - Roche® no Laboratório Clínico da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da UNESP.

4.3.3.4. Avaliação sorológica pela técnica de ELISA

Para a realização do teste de ELISA, foi utilizada a técnica com bloqueio na fase líquida conforme procedimento adaptado por Araújo Júnior (1996) (133). Todo material utilizado neste trabalho (vírus, antissoros, soros de referência, conjugado imunoenzimático, anticorpos, dentre outros) encontram-se estocados em freezer a – 20 e a – 80°C no Laboratório de Virologia do Instituto de Biociências de Botucatu sob a coordenação do Prof. Dr. João Pessoa Araújo Junior, que gentilmente se dispôs a cedê-los para a concretização deste estudo.

4.3.3.4.1. Purificação do OPMV

O OPMV, isolado de um surto de paramixovirose em 2001 no CEVAP descrita por Nogueira (2002) (111), já se encontrava devidamente purificado e armazenado no Laboratório de Virologia no Instituto de Biociências de Botucatu (IBB), da UNESP Campus Botucatu. Para tanto foi seguido o protocolo preconizado por Araújo Júnior (1996) (133), com o título hemaglutinante de 1.280 e sua concentração proteica de 200 µg/mL.

4.3.3.4.2. Antissoro de captura (coelho) e detector (cobaio)

O antissoro de captura foi produzido por meio da inoculação de antígeno puro (OPMV) emulsionado com adjuvante completo de Freund (ACF) em coelhos e o antissoro detector em cobaias. Suas diluições ótimas foram propostas por Araújo Júnior (1996) (133) e correspondem a 1:500 para o soro de captura e 1:250 para o soro detector. Esses foram os valores, já padronizados anteriormente, foram adotados no presente estudo.

4.3.3.4.3. Soros de referência

Os soros de duas cascavéis, comprovadamente sem paramixovírus, foram utilizados para obtenção do soro de referência negativo. O padrão positivo foi de duas amostras de soro de serpentes eutanasiadas com sinais da doença que foram encaminhadas para o isolamento do vírus OPMV. Ambos os soros, estão estocados em freezer a -80 °C e pertencem ao estudo que Nogueira e colaboradores (2002) (111) sobre o surto de OPMV ocorrido no CEVAP. Estes foram previamente testados pela técnica de ELISA para comprovar a eficiência dos mesmos como referência.

4.3.3.4.4. Soros teste

Foram testados os soros de 42 serpentes, alojadas no serpentário do CEVAP, coletados em fevereiro de 2013.

Foram empregadas microplacas de 96 cavidades de fundo chato, da marca Nunc Maxisorp com certificado (039511). Para a fase líquida usou-se microplacas de 96 cavidades e fundo em “U” previamente tratadas com leite em pó desnatado a 10% por 24 horas, diluído em tampão carbonato-bicarbonato (TCB) 0,05 mol/L, pH 9,6. Em uma primeira etapa, os antissoros de coelho anti OPMV (anticorpo de captura), diluídos na sua dose de reatividade ótima, em TCB 1:500, foram adicionados na quantidade de 100 µL a cada cavidade da

microplaca, exceto nas cavidades branco. Esta foi então incubada por 18 horas, a 4°C, em câmara úmida, a fim de promover maior adsorção do antissoro.

Simultaneamente à sensibilização das microplacas com anticorpo de captura, diluições de 1:40 dos soros de cascavéis de referência positiva, negativa e os soros a serem testados do CEVAP, foram avaliadas em PBST (0,01 M PO_4^{2-} 0,14 M NaCl, pH 7,4) acrescido de 0,05 % de Tween-20 (PBST) e 10% de leite em pó desnatado. Essas diluições foram inseridas em placas rígidas de ELISA (fundo em "U"), e armazenadas overnight em câmara úmida, a 4°C. Após este período, entre todas as fases da reação, a microplaca de fundo chato foi lavada cinco vezes com PBST, a fim de eliminar o excesso de reagentes da fase anterior. Para evitar possíveis adsorções de antígenos ou anticorpos (ruídos) fez-se um bloqueio com TCB, acrescido de 10% de leite desnatado em todas as cavidades, deixando um volume de 300 μL , por 1 hora em estufa, a 37°C. Após a lavagem, os soros diluídos na placa em "U" foram transferidos para a de fundo chato, deixando em cada cavidade, 100 μL de cada diluição, sendo a reação incubada nas mesmas condições anteriormente descritas. Em seguida, adicionou-se o anticorpo detector (proveniente de cobaio), a 1:250 em PBST com 10% de leite desnatado, com um volume final de 100 μL em cada poço, e as amostras retornaram à estufa, a 37°C por mais 1 hora. Adicionou-se o conjugado imunoenzimático anti-cobaio produzido em cabra (Sigma®), acrescido de 10% de leite desnatado em PBST 1:1000, com volume final de 100 μL em cada cavidade, e mais uma vez permaneceram em estufa, a 37°C por 1 hora. Na etapa final foi acrescentado as amostras um substrato formado a partir de 10 mL de Tampão Citrato-Acetato (TCA) 0,1 Mol/L, pH 6,0, 100 μL de cromógeno Tetrametilbenzidina TMB a 10 mg/mL e 2,5 μL de peróxido de hidrogênio, a 30%, com volume final em cada poço de 100 μL , onde permaneceram por 15 minutos em um homogeneizador com uma rotação média. A reação foi bloqueada com 50 μL de HCl em cada poço e a leitura foi realizada pelo programa computacional Genesis.

Para a leitura das placas de ELISA, foi utilizado o leitor Titertek MULTISKAN-II, no comprimento de onda de 450 nm contra um branco onde foi colocado apenas o substrato e o bloqueador enzimático. Os resultados da titulação foram apresentados como porcentagem de inibição em relação à

amostra controle onde não foram adicionados os soros testes. Animais com porcentagens de inibição maiores que 80 % foram considerados como positivo forte; de 80 a 40% como positivo fraco; e menores que 40% como negativos para anticorpos contra OPMV.

Estes cálculos foram realizados primeiramente, subtraindo de todos os soros os valores dos ruídos da reação, que são representados pelas médias das porcentagens de inibição das cavidades das microplacas de ELISA, contendo apenas anticorpo de captura e anticorpo detector. A equação utilizada para o cálculo foi (133):

$$\frac{(\text{Média das duplicatas dos soros teste}) - \text{ruído} \times 100}{\text{Média dos soros (+)}}$$

5. RESULTADOS

5.1. Infraestrutura

Apesar de o serpentário semiextensivo possuir vantagens como acesso a luz solar, espaço para movimentação e menor contato dos animais com os funcionários (menos estresse), ainda assim foi o local com maior número de óbitos (62%) e de animais apresentando anticorpos contra o OPMV, 75% dos positivos. Por outro lado, o serpentário intensivo, especificamente as salas dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*, possuíam os animais com maior carga parasitária apesar de ser o local com maior facilidade de controle de temperatura, umidade, limpeza e alimentação. Os quarentenários e museu de visitação obtiveram os menores índices de parasitismo e taxa de mortalidade.

5.2. Exames clínicos, taxas de mortalidade e longevidade

No início do estudo (fevereiro de 2013) todos os animais apresentavam bom escore corporal (não se notavam as apófises ou costelas no animal), ausência de ectoparasitas, ausência de traumas ou fraturas, sinais respiratórios, ou qualquer outro sinal que indicasse enfermidade. Entretanto, de acordo com o acompanhamento do histórico individual, existiam animais que não se alimentavam há cerca de três meses e que tinham atraso no esquema de vermifugação. Os testes e exames foram realizados uma vez em cada animal, terminando todas as análises em outubro de 2014, quando foi calculado o índice de mortalidade de 38%. Dos 42 animais avaliados, 16 foram a óbito, sendo seis destes provenientes do serpentário de manejo intensivo, onde cinco pertenciam à sala do gênero *Bothrops* (31%) e um pertencente ao museu de visitação (6%) e 10 do serpentário de manejo semiextensivo (62%) (tabela 1). Foi realizada análise sobre a média e desvio padrão da longevidade (dias entre entrada no CEVAP e óbito) dos animais que vieram a óbito e os resultados demonstraram que a maior longevidade registrada, 3592 dias, pertencia a uma *B. alternatus* pertencente ao serpentário intensivo e a menor foi de uma *C. durissus terrificus* que estava alojada no serpentário semiextensivo (223 dias) (tabela 2).

Tabela 1. Taxa de mortalidade por espécie de serpente e local estudado

Local	Serpente	Taxa de mortalidade
Serpentário Intensivo: Sala Gênero <i>Bothrops</i>	<i>B. jararacussu</i> (n=1) <i>B. alternatus</i> (n=4)	31% do total de óbitos
Serpentário Intensivo: Museu de Visitação	<i>H. gigas</i> (n=1)	6% do total de óbitos
Serpentário Semiextensivo	<i>C. durissus terrificus</i> (n=10)	62% do total de óbitos

Tabela 2. Longevidade em dias com média e desvio padrão para cada gênero e local pertencente no serpentário dos animais que vieram a óbito durante o experimento, contando desde sua data de entrada no CEVAP até o dia do óbito.

Local	Serpente	Longevidade (dias)	M ± DP
Serpentário Intensivo: Sala Gênero <i>Bothrops</i>	An.1 - <i>B.jsu</i>	353	2302,8 ± 1452,5
	An.2 - <i>B.a</i>	3592	
	An.3 - <i>B.a</i>	1205	
	An.4 - <i>B.a</i>	2847	
	An.5 - <i>B.a</i>	3517	
Serpentário Intensivo: Museu de Visitação	An.36 - <i>H.g</i>	993	993
Serpentário Semiextensivo	An.10 - <i>C.d.t</i>	223	168,4 ± 458,3
	An.18 - <i>C.d.t</i>	833	
	An.20 - <i>C.d.t</i>	348	
	An.22 - <i>C.d.t</i>	538	
	An.25 - <i>C.d.t</i>	348	
	An.27 - <i>C.d.t</i>	455	
	An.28 - <i>C.d.t</i>	387	
	An.29 - <i>C.d.t</i>	415	
	An.30 - <i>C.d.t</i>	432	
	An.31 - <i>C.d.t</i>	604	

A tabela 3 mostra a comparação entre *Bothrops* e *Crotalus* em relação à longevidade em dias. Apesar da ausência de diferença estatisticamente significativa, houve indícios de que as serpentes *Bothrops* eram mais longevas (*Bothrops*=1387 vs *Crotalus*=837;p=0,118). A tabela 4 compara a sobrevivência dos dois gêneros (em dias) dentro do experimento.

Tabela 3 - Comparação entre gêneros em relação à longevidade em dias.

Variável	Gênero <i>Bothrops</i> (n=9)	Gênero <i>Crotalus</i> (n=27)	p
Longevidade no serpentário	1387(353-3592)	837(223-4353)	0.118

Mann-Whitney
p = 0,05

Tabela 4. Comparação entre os gêneros quanto ao tempo de vida (em dias) dentro do experimento

Variável	Gênero <i>Bothrops</i> (n=9) Gênero <i>Crotalus</i> (n=27)		p
	Médio (IC95%)	Médio (IC95%)	
Tempo de sobrevivência	374(240-508)	441(359-532)	0,373

Teste de Log-rank
p = 0,05
IC = intervalo de confiança

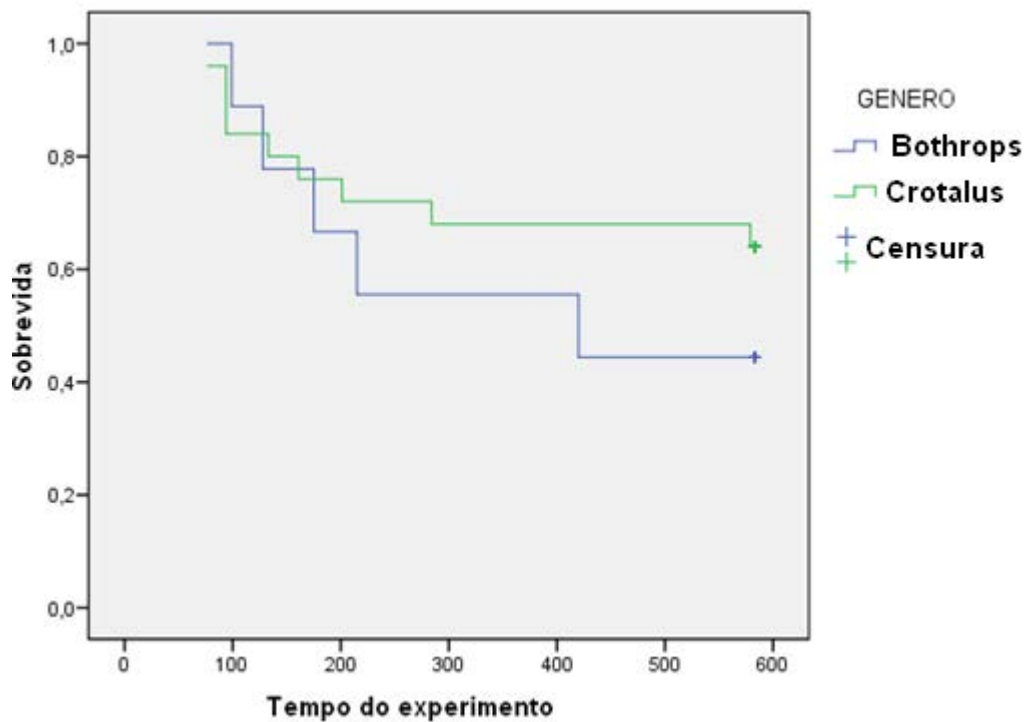


Gráfico 1. Curva de sobrevivência dos gêneros *Bothrops* e gênero *Crotalus*.

5.3. Exames coproparasitológicos

Após a avaliação coproparasitológica, foi observada uma prevalência de 15 animais (35%) que apresentaram ovos e oocistos de endoparasitas. Destes, 11 pertenciam ao serpentário de manejo intensivo dos quais 7 ficavam nas salas do gênero *Bothrops* e *Crotalus*, 3 nos quarentenários e 1 no museu de visitação, além de 4 pertencentes ao serpentário de manejo semiextensivo (tabela 1). Dos ovos e oocistos identificados foram observados coccídeos (figura 10 e 11), trematódeos (figura 11), estrogilídeos (figura 12) e oxiurídeos (figura 13). O animal 18 (*C. durissus terrificus*) (vide anexo II) pertencente ao serpentário semiextensivo veio a óbito em outubro de 2014 e sua carcaça apresentava-se em bom estado. Foi realizado exame necroscópico onde foram encontradas algumas larvas encistadas de nematódeo nos rins e um ascarídeo perfurando o fígado (figura 15A e B). Este parasita provavelmente migrou do estômago, pois em sua identificação possuía boca trilabiada (figura 15B), típico da família Ascaridae.

Tabela 5. Ovos e oocistos de endoparasitas encontrados nas serpentes, de acordo com cada local estudado e de cada espécie.

Local	Serpente	Ovos e oocistos
Serpentário Intensivo Salas Gêneros <i>Crotalus</i> <i>Bothrops</i>	<i>C. durissus terrificus</i> (n=3)	Oxiurídeos e coccídeos
	<i>B. jararacussu</i> (n=1)	Oxiurídeos
	<i>B. alternatus</i> (n=3)	Oxiurídeos, coccídeos, estrongilídeos e trematódios
Serpentário Intensivo Museu de Visitação	<i>P. molurus bivittatus</i> (n=1)	Estrongilídeos
Serpentário Intensivo Quarentenários	<i>B. moojeni</i> (n=1)	Oxiurídeos
	<i>C. durissus terrificus</i> (n=2)	Oxiurídeos e coccídeos
Serpentário Semiextensivo	<i>C. durissus terrificus</i> (n=4)	Oxiurídeos, coccídeos e estrongilídeos

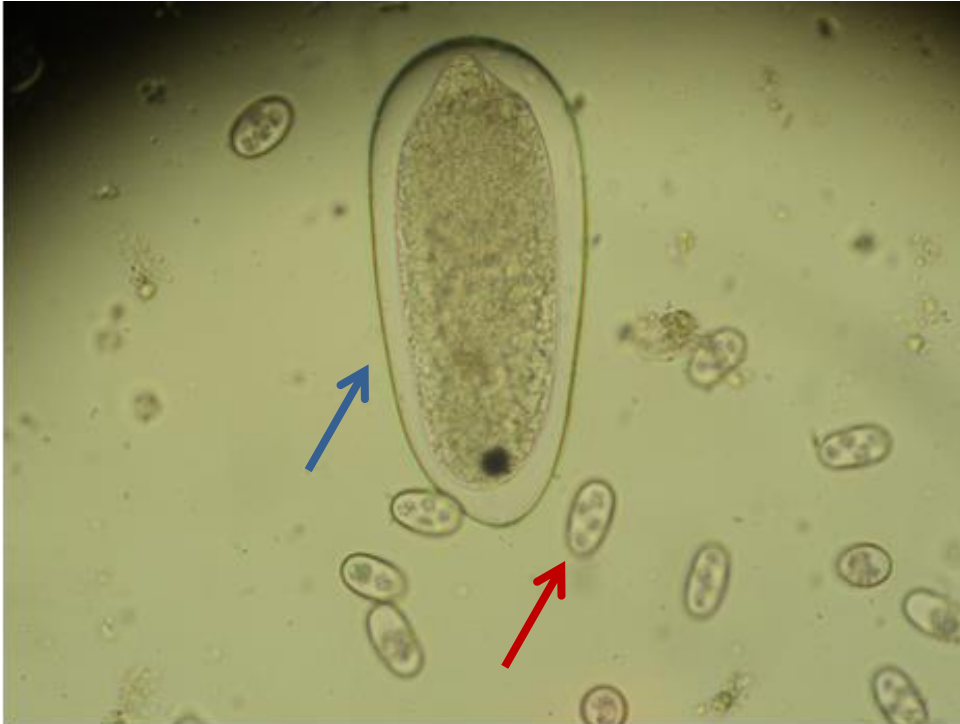


Figura 11. Ovo de trematódeo (seta azul) e oocistos de coccídeos (seta vermelha) observados pela técnica de Willis e Mollay em *B. alternatus* (animal 3) do serpentário de manejo intensivo (objetiva 25X).



Figura 12. Ovo de estrongilídeo detectado pela técnica de Willis Mollay em *B. alternatus* (animal 6) proveniente do serpentário de manejo semiextensivo (objetiva 25X).



Figura 13. Ovo de oxyurídeo detectado pela técnica de Willis Mollay em *C. durissus terrificus* (animal 13) proveniente do serpântário de manejo intensivo (objetiva 25X).

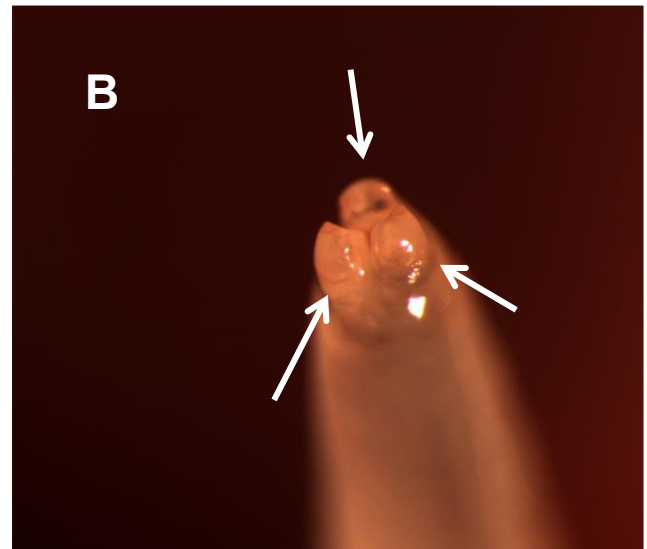
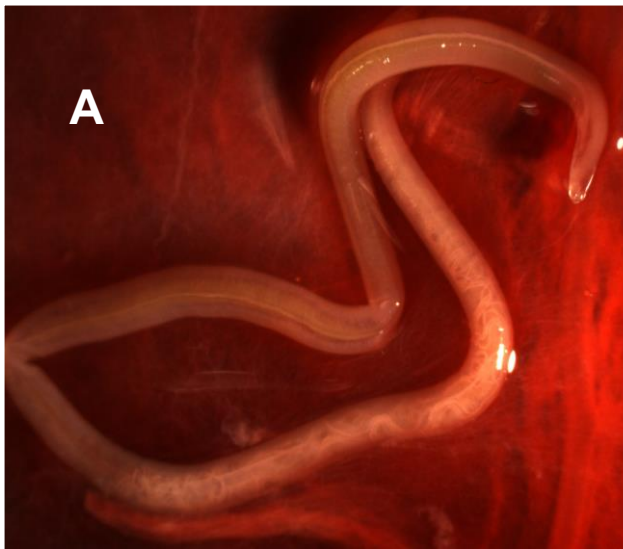


Figura 15 A - Ascarídeo encontrado perfurando fígado de *C. durissus terrificus* (animal 18) pertencente ao serpântário de manejo semiextensivo por meio de exame necroscópico. **B** - Boca trilabiada típica de ascarídeos.

5.4. Exames hematológicos e bioquímicos

Os testes hematológicos e bioquímicos foram realizados neste estudo com o intuito de manter o controle dos animais, caso obtivesse um resultado muito diferente do pré-estabelecido para aquele gênero ou apresentasse resultados inesperados como a presença de hemoparasitas. Foram calculadas (por gênero) as médias, os valores mínimos e máximos de hemácias totais, hematócrito, proteínas plasmáticas totais, leucócitos, heterófilos e linfócitos totais além dos parâmetros bioquímicos de albumina, proteínas totais, AST e ácido úrico (Tabelas 6-9). Quatro animais apresentaram os menores índices de hematócrito, animal 6 (*B.alternatus* do serpentário intensivo), animal 8 (*C.durissus terrificus* serpentário intensivo/quarentena), animal 20 (*C.durissus terrificus* serpentário semiextensivo) e animal 42 (*B.jararacussu* do museu de visitação), aonde este último apresentava plasma icteríco. Foram visualizadas hemogregarinas no animal 19 (*C.durissus terrificus* do semiextensivo) (figura 16). Os exames hematológicos e bioquímicos individuais constam no anexo III.

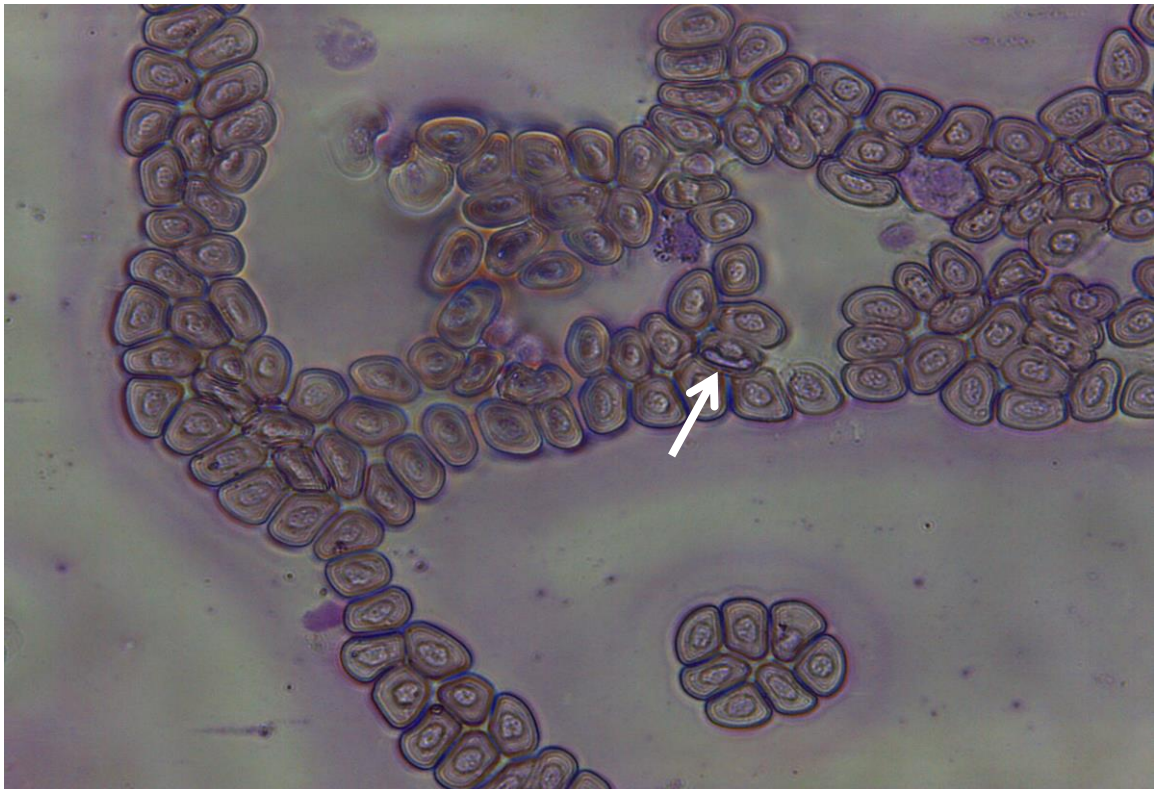


Figura 16. Esfregaço sanguíneo do animal 19 (*C. durissus terrificus*) pertencente ao serpentário semiextensivo com presença de hemogregarina (seta branca).

Tabela 6. Resultados hematológicos de hematócrito, hemácias, proteínas plasmáticas totais dos gêneros de serpentes estudadas com média, mínimo e máximo. Alguns gêneros possuíam apenas um exemplar.

Gênero	Hemácias Totais (/µL)			Hematócrito (%)			Proteínas plasmáticas totais (g/dL)		
	Med	Mín	Máx	Med	Mín	Máx	Med	Mín	Máx
<i>Bothrops sp.</i> (n=9)	372016	156550	545400	23	8	34	4,9	3,6	7,4
<i>Crotalus sp.</i> (n=27)	422786	282800	600950	27	16	36	5,3	3,8	6,4
<i>Python sp.</i> (n=2)	661550	560550	762550	31	27	35	5,9	4,6	7,2
<i>Eunectes sp.</i> (n=2)	439350	323200	555500	24	24	24	6,0	4,8	7,2
<i>Boa constrictor sp.</i> (n=1)	424200	424200	424200	24	24	24	6,0	6,0	6,0
<i>Hydrodynastes sp.</i> (n=1)	368650	368650	368650	23	23	23	4,4	4,4	4,4

Tabela 7. Resultados hematológicos de leucócitos, heterófilos e linfócitos totais dos gêneros de serpentes estudadas com média, mínimo e máximo. Alguns gêneros possuíam apenas um exemplar.

Gênero	Leucócitos Totais (/µL)			Heterófilos Totais (/µL)			Linfócitos totais (/µL)		
	Med	Mín	Máx	Med	Mín	Máx	Med	Mín	Máx
<i>Bothrops sp.</i> (n=9)	11334	3030	26260	1575	353	3646	4242	1363	18644
<i>Crotalus sp.</i> (n=27)	13049	3030	24240	1575	404	4888	6635	1272	35107
<i>Python sp.</i> (n=2)	34845	30300	39390	6666	5454	7878	28709	17877	21664
<i>Eunectes sp.</i> (n=2)	16160	13130	19190	2322	1575	3070	9115	7484	10746
<i>Boa constrictor sp.</i> (n=1)	19190	19190	19190	3454	3454	3454	9403	9403	9403
<i>Hydrodynastes sp.</i> (n=1)	23230	23230	23230	3484	3484	3484	10221	10221	10221

Tabela 8. Resultados bioquímicos de proteínas totais e albumina dos gêneros de serpentes estudadas com média, mínimo e máximo. Alguns gêneros possuíam apenas um exemplar.

Gênero	Proteínas Totais (g/dL)			Albumina (g/dL)		
	Med	Mín	Máx	Med	Mín	Máx
<i>Bothrops sp.</i> (n=9)	3,95	2,80	5,50	1,86	1,14	2,51
<i>Crotalus sp.</i> (n=27)	3,99	2,60	5,40	1,82	1,19	2,33
<i>Python sp.</i> (n=2)	6,05	6,00	6,10	2,40	2,14	2,67
<i>Eunectes sp.</i> (n=2)	4,30	3,20	5,40	1,78	1,48	2,09
<i>Boa constrictor sp.</i> (n=1)	4,80	4,80	4,80	2,45	2,45	2,45
<i>Hydrodynastes sp.</i> (n=1)	3,40	3,40	3,40	1,18	1,18	1,18

Tabela 9. Resultados bioquímicos de AST e ácido úrico dos gêneros de serpentes estudadas com média, mínimo e máximo. Alguns gêneros possuíam apenas um exemplar.

Gênero	AST (U/L)			Ácido úrico (mg/dL)		
	Med	Mín	Máx	Med	Mín	Máx
<i>Bothrops sp.</i> (n=9)	8,25	3,00	18,00	10,27	1,50	38,80
<i>Crotalus sp.</i> (n=27)	40,03	2,00	160,00	3,63	0,80	13,10
<i>Python sp.</i> (n=2)	15,50	15,00	16,00	6,25	6,00	6,50
<i>Eunectes sp.</i> (n=2)	7,50	5,00	10,00	7,15	4,00	10,30
<i>Boa constrictor sp.</i> (n=1)	4,00	4,00	4,00	3,70	3,70	3,70
<i>Hydrodynastes sp.</i> (n=1)	9,00	9,00	9,00	5,00	5,00	5,00

5.5. Exame sorológico - ELISA

Dos 42 animais testados, quatro (9,5%) apresentaram anticorpos contra o paramixovirus (tabela 10). Todos os animais eram da espécie *C. durissus terrificus*, sendo que dois vieram a óbito durante o estudo. Os dois sobreviventes permaneceram estáveis. Um animal pertencia ao serpentário intensivo sendo classificado como positivo fraco e os três demais estavam alojados no serpentário semiextensivo (anexo IV).

Tabela 10. Resultados do teste ELISA em busca de anticorpos anti-OPMV, animais soropositivos de acordo com espécie e local dentro do CEVAP.

Local	Serpente	Observações
Serpentário Intensivo	<i>C. durissus terrificus</i> (n=1)	Sobrevivente de surto de OPMV, positivo fraco.
Serpentário Semiextensivo	<i>C. durissus terrificus</i> (n=3)	Todos positivos fortes, dois animais vieram à óbito, um deles com sintomas respiratórios e neurológicos.

6. DISCUSSÃO

O serpentário semiextensivo do CEVAP possui recursos tais como acesso a luz solar direta, água corrente *ad libitum*, espaço para movimentação, vazio sanitário, menor contato dos animais com os funcionários e alunos e, portanto, teoricamente menos estresse. Apesar de todos estes cuidados foi o local onde se observou o maior número de óbitos (62%). As desvantagens são: ausência de controle de temperatura e umidade, além da possibilidade de aquisição de doenças infecciosas e parasitárias pela facilidade de disseminação de vírus, bactérias, fungos e parasitas pelo meio ambiente. Em contrapartida, o ambiente intensivo, local onde os animais são alojados individualmente em caixas de polipropileno, facilita a autoinfecção de endoparasitas, confirmado pelo grande número de ovos e oocistos encontrados nas serpentes, mesmo com todo o manejo e rigor na limpeza.

A respeito da localização dos quarentenários, como já descrito por Campagner et al. (2011) (8), deve-se manter este local de recepção de animais recém-chegados da natureza pelo menos a uma distância de 50 metros da estrutura predial onde se aloja o plantel definitivo. Esta proposta foi baseada no trabalho de Silva e Correa (2007) (160) que descrevem estas mesmas condições para a infraestrutura dos zoológicos. Além da localização outro cuidado importante está relacionado com a circulação de alunos, funcionários e visitantes. Estes devem obedecer a um fluxo previamente estabelecido evitando-se a entrada nos serpentários definitivos, após ter participado de atividades nos quarentenários. Estes cuidados evitariam a propagação de patógenos pelas mãos, roupas e calçados. Estas recomendações deverão ser reafirmadas junto à atual administração do Centro

Há ainda a questão da superlotação do serpentário semiextensivo, onde em cada baia convivem aproximadamente 50 serpentes, todas da espécie *C. durissus terrificus*. Este número de animais dificulta um tratamento e uma dedicação individualizada pelos responsáveis. Um cuidado que deveria ser revisto, especialmente no verão, é a abertura das portas que dão acesso ao sol, a fim de que os animais possam se beneficiar da luz natural durante o dia. Evidentemente que toda tarde os responsáveis deverão adentrar ao ambiente e colocar os animais para a baia interna, onde há aquecedores ligados

ininterruptamente. Estes são necessários, uma vez que nas madrugadas do município de Botucatu a temperatura declina significativamente. Outra solução seria dividir as baias já existentes, permitindo assim a convivência de um menor número de animais neste tipo de cativeiro, permitindo uma atenção maior a cada serpente alojada.

Em relação ao exame clínico todos os animais ao início do estudo encontravam-se aparentemente saudáveis, sem ectoparasitas, traumas ou qualquer sinal clínico que indicasse enfermidade. Após 20 meses de observação houve um índice de mortalidade de aproximadamente 38%. Assim, dos 42 animais avaliados, 16 vieram a óbito neste período, sendo cinco do serpentário intensivo (uma *B. jararacussu* e quatro *B. alternatus*) e 10 (*C. durissus terrificus*) do semiextensivo e um do museu de visitação (*H. gigas*). A longevidade dos animais foi calculada baseada na data de chegada e do óbito. Concluiu-se, portanto, que o gênero *Crotalus* apresentou menor longevidade quando comparada ao *Bothrops*. Estes resultados sugerem que esta menor longevidade pode estar relacionada a um ambiente de difícil controle térmico e superpopulação, como ocorre no serpentário semiextensivo, onde está alocada a grande maioria das serpentes *Crotalus* do CEVAP.

Ao se comparar os resultados obtidos com os de Costa (2005) (1) observou-se maior longevidade do gênero *Bothrops* (3.592 dias). Em contrapartida, as *C. durissus terrificus* do presente estudo, apesar de uma boa longevidade (833 dias), os resultados de Costa foram melhores e atingiram 927 dias. A conclusão que chegamos é a de que as serpentes do gênero *Bothrops*, alojadas em caixas individuais no serpentário intensivo, se adaptaram melhor a este ambiente. Estas informações foram obtidas a partir do Banco de Dados do CEVAP entre os anos de 2012 e 2013 e corroboram os resultados do atual estudo. Neste caso, a maioria dos óbitos ocorre nos primeiros seis meses após a chegada dos animais ao cativeiro, a grande maioria eram *C. durissus terrificus*, as quais são alojadas no cativeiro semiextensivo.

Os atuais resultados discordam dos anteriores relatados por Campagner e colaboradores (2011) (8) que afirmaram que a taxa de mortalidade no CEVAP era de 51%, entre os anos de 2007 a 2009, e que estes animais pertenciam ao cativeiro intensivo em sua grande maioria. O período inicial de cativeiro é crítico, pois a não adaptação muitas vezes vem acompanhada de

um quadro de anorexia e óbito, características de um quadro de estresse e síndrome da má adaptação (16, 46). A partir do quarentenário os mais adaptados sobrevivem e seguem para o cativeiro intensivo, ao qual pertence um plantel mais estável e mais antigo, com características de veneno de maior interesse tais como a crotamina e a hialuronidase positivas. Os resultados atuais, apesar de controversos, permitem concluir que houve melhora no manejo global do serpentário, com base nos resultados de taxa de mortalidade e longevidade. Em 2015 obter-se-á, a partir do Banco de dados do CEVAP, uma confirmação sobre a melhora ou piora nas taxas de mortalidade geral no Centro, já que no ano de 2013, a grande maioria dos óbitos era de filhotes, que sabidamente têm uma difícil sobrevivência em serpentários científicos.

Em relação aos parasitas intestinais, os nematódeos são os de maior prevalência (71, 74, 75). Geralmente causam anorexia com consequente perda de peso e diarreia com presença de muco e/ou sangue (10). Dentre os mais relatados estão os ascarídeos, ancilostomatídeos, oxiurídeos, filarídeos, e espirurídeos (55). O cativeiro quer intensivo, quer semiextensivo, introduz uma nova dimensão ao parasitismo, promovendo condições e micro habitats favoráveis à infecção (4). Em relação aos resultados coproparasitológicos, os ovos e oocistos identificados foram os de coccídeos, trematódeos, strongilídeos, oxiurídeos e ascarídeos em 35% dos animais. Sugere-se que este percentual seja maior do que o encontrado, corroborando com Jorge (2013) (90). Este autor afirma que a prevalência encontrada nos exames de fezes na maioria das vezes não condiz com a realidade. Isto porque os exames necroscópicos revelam elevados índices parasitários, em desacordo com os exames coproparasitológicos. No presente estudo temos um exemplo disto: no animal 18 (vide anexos) não foram achados ovos de ascarídeos, mas em sua necropsia foi encontrado um verme adulto no fígado. A negatividade do exame de fezes também pode ser atribuída ao estágio de vida do parasita no momento do exame, em qual tecido se encontra alojado, presença de fêmeas liberando ovos, além da carga parasitária (90). Neste projeto só foi realizado um exame de fezes em cada animal, muitas vezes pela impossibilidade de repetir nos animais que vieram a óbito. Porém deve-se levar em consideração que nem sempre a presença do ovo de endoparasita nos exames coproparasitológicos significa o diagnóstico de parasitose no animal, pois este

achado pode fazer parte do hábito alimentar das serpentes (69, 94), onde sua presa estava parasitada e aqueles ovos estão apenas transitando em seu trato gastrointestinal. Neste caso o parasita não completa seu ciclo biológico, já que seu hospedeiro definitivo é específico (95). Como exemplo, temos a presença de ovos de oxiurídeos, porém, não existe relato deste tipo de verme adulto parasitando serpentes. Certamente estes ovos são provenientes dos animais das quais as serpentes se alimentaram no cativeiro ou em vida livre (69).

Os animais que chegam da natureza são vermifugados com ivermectina na dose de 0,2 mg/kg, quando estão na triagem e a cada seis meses quando no plantel definitivo. Entretanto, este protocolo parece não estar protegendo adequadamente contra o endoparasitismo, seja pelo intervalo deste procedimento (alguns animais tinham mais de seis meses de atraso) ou mesmo pelo medicamento utilizado que pode estar causando resistência. Os animais confinados individualmente em caixas (serpentário intensivo) têm as maiores chances de autoinfecção do que os do sistema semiextensivo devido ao contato direto com as próprias fezes, por mais que o manejo de limpeza seja constante. Apesar disso, a ivermectina parece estar agindo contra ectoparasitas como carrapatos e ácaros, pois no período deste estudo não se observou a presença destes artrópodes, apesar de o CEVAP ter um histórico de infestação pelo ácaro *Ophionyssus natricis*. Esta espécie de ácaro se reproduz em grande velocidade e causa infestações de difícil controle sanitário em serpentários científicos (2, 51, 55, 65), especialmente nas épocas mais quentes do ano quando sua taxa de locomoção está aumentada (64).

As alternativas ao atual protocolo de vermifugação são: febendazol via oral na dose 50 mg/kg; levamisol injetável na dose 10 mg/kg; praziquantel injetável na dose 8 mg/kg, mebendazol via oral 100 mg/kg e metronidazol que trata a infestação por protozoários, via oral na dose 100 mg/kg (55). Como acontece em zoológicos, um rodízio medicamentoso variando o tipo de droga antiparasitária utilizada poderia diminuir significativamente o fenômeno da resistência dos endoparasitas. Além disso, a inclusão dos roedores do biotério no esquema de vermifugação deve garantir uma maior higiene para ambas as espécies além de evitar qualquer possibilidade de transmissão de parasitas interespecíficos, mesmo a literatura não registrando casos de parasitas adultos de roedores em serpentes. Por fim, como a ivermectina deixará de ser

produzida segundo informações dos revendedores (comunicação pessoal), novos protocolos deverão ser propostos para a vermifugação dos animais em cativeiro.

As células do sangue dos répteis são compostas por eritrócitos, trombócitos, e leucócitos, sendo este último classificado em granulócitos (heterófilos, eosinófilos, basófilos) e células mononucleares (linfócitos, monócitos e azurófilos), variando em número e morfologia de grânulos, padrões de coloração citoquímica e concentração no sangue periférico de acordo com espécies e gêneros (135).

A hematologia é utilizada para avaliar-se o número de células da série vermelha e sua morfologia, hematócrito, concentração de hemoglobina e índices eritrocitários, além da contagem de células brancas e seu diferencial. A contagem total de eritrócitos em serpentes varia de 700.000 a 1.600.000/ μL (138, 139, 146). Os animais deste estudo possuíam a contagem de eritrócitos dentro deste índice de normalidade. O microhematócrito é uma técnica manual e complementar ao hemograma que permite mensurar o volume que os eritrócitos ocupam em um determinado volume de sangue total. Avaliando-se as médias dos valores hematológicos de cada gênero neste trabalho, foram detectados casos pontuais de anemia, quando o valor de hematócrito estava abaixo de 20%, pois se sabe que os valores normais de hematócrito em serpentes variam de 20% a 35% (137).

Quanto aos exames bioquímicos, não houve dados dignos de nota já que os resultados estavam dentro das taxas de normalidade quando comparados com outros autores que afirmam que os valores de normalidade das proteínas totais variam de 3 a 7g/dL. Valores menores que estes sugerem hipoproteinemia, fato que pode estar relacionado à perda excessiva de sangue por traumas ou mesmo parasitismo, má nutrição, deficiência absorção de nutrientes, enteropatias, enfermidades hepáticas ou renais crônicas (143). Já os valores de normalidade de albumina, proteína que está fortemente ligada ao estado nutricional, variam de 1.0 a 3.5 g/dL (151). A bioquímica do sangue para detectar doença renal em répteis é mais difícil do que em mamíferos pela própria diferença fisiológica de seus rins, sendo considerado normal a concentração de ácido úrico de até 10 mg/dL. A aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima encontrada no fígado, músculo esquelético e miocárdio.

Seu aumento no organismo sugere injúria hepática ou muscular. Em geral sua concentração no plasma é de até 250 U/L. (140).

Apesar de pontuais, estes resultados ajudam a visualizar os problemas do serpentário e uma possibilidade de tratamento individual de acordo com a necessidade de cada espécie, visando à saúde do plantel como um todo.

A interpretação de dados hematológicos ainda é um desafio em répteis quando comparados aos animais domésticos devido ao baixo número de trabalhos nesta área e a divergência de valores de referência para a maioria das espécies. Esta variabilidade nos parâmetros hematológicos está envolvida com as diferentes condições fisiológicas e adaptações ao ambiente destes animais, dificultando o estabelecimento de um diagnóstico clínico (99). A melhor abordagem para uma boa avaliação é obter valores de referência *in situ* do mesmo indivíduo, coletando e analisando suas amostras pelo menos duas vezes ao ano (66).

Em relação aos vírus, o paramixovírus de serpente (OPMV), desde sua descrição em 1972 tornou-se importante patógeno, causador de doença grave, na maioria das vezes fatal, especialmente nos viperídeos (109). Foram descritos surtos em diversos países do mundo (5, 110, 111), inclusive no Brasil. O próprio CEVAP sofreu dois surtos sendo um em 1997 e outro em 2002 (111). Nestes, perdeu-se mais de 50% do plantel, algo em torno de 400 serpentes, sendo a maioria *C. durissus terrificus*.

Os resultados do teste de ELISA em busca de anticorpos contra o OPMV demonstraram que quatro (9,5%) animais eram soropositivos. Em relação aos locais os quais pertenciam, três eram provenientes do serpentário semiextensivo e um do intensivo (sala do gênero *Crotalus*). Este último animal, pelos registros do banco de dados do CEVAP, é um dos sobreviventes de um dos surtos de paramixovirose ocorridos em 2002. Essas informações levam a crer que o serpentário semiextensivo, por ser um ambiente com mais de 50 animais convivendo em liberdade, a facilidade de contágio entre eles é maior. Isto porque dividem o mesmo espaço físico além de entrarem em contato com as excretas, secreções e aerossóis uns dos outros. Já os animais que convivem em caixas de polipropileno, o microambiente forma uma barreira protetora ao contágio, dificultando a disseminação do vírus. Neste último caso as condições de contágio só serão facilitadas se não forem realizadas as boas

práticas laboratoriais durante o manejo. A análise pela técnica de ELISA mostrou-se útil, barata e rápida para se detectar anticorpos contra o vírus OPMV. Este teste poderá ser incorporado aos exames de triagem dos animais quando da chegada ao CEVAP e posteriormente no acompanhamento durante o cativeiro.

Quanto à presença de sorologia positiva (dos animais sobreviventes), o que não se sabe ao certo ainda é se estes animais são reservatórios naturais e potenciais transmissores do vírus para os demais. Se isso realmente ocorrer novas providências deverão ser tomadas no manejo do CEVAP, diagnosticando-se precocemente estes casos logo na chegada à triagem, isolando-os do plantel definitivo e em último caso sacrificando-os. Outra possibilidade é que estes animais sejam resistentes às novas infecções pelo vírus OPMV. Se isto for verdade o desenvolvimento de vacinas seria uma possibilidade de controle da doença em cativeiro. Houve tentativas de produção destas em 1991, mas sem sucesso, por Jacobson e colaboradores e Lloyd e Flanagan (122, 123). É sabido da literatura mundial (118, 119) que os Filoviridae (vírus do Ebola), Paramyxoviridae (OPMV) e Rhabdoviridae (vírus da raiva), todos estes geneticamente relacionados, podem tornar os hospedeiros naturais sorologicamente positivos sem se comprovar a presença do vírus pelo teste do PCR. A dúvida ainda persiste, se a presença destes anticorpos nos animais são protetores ou apenas sinalizadores de um possível reservatório natural. Estudos futuros poderão esclarecer estas dúvidas.

Por fim, deve-se salientar que o manejo de animais em cativeiro deve ser encarado sempre como uma atividade dinâmica, de observação constante, de avaliação e reavaliação permanentes e de mudanças de paradigma frequentes, sempre baseadas em dados acadêmicos minuciosamente analisados.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES

Apesar da existência de diversos serpentários produtores de veneno para fins comerciais e/ou científicos, ainda não existe um Procedimento Operacional Padrão (POP) para as Boas práticas de manejo em cativeiro. Cada serpentário elabora o seu de acordo com as necessidades e na maioria das vezes sem uma base acadêmico-científica. Em 2014 estes procedimentos foram reavaliados nos animais alojados no CEVAP e estamos sugerindo o que se segue:

- A queda na taxa de mortalidade de 51% em 2011 para 38% em 2014, observada nos animais avaliados neste estudo, indica melhoria nas boas práticas de manejo;
- A terapia anti-helmíntica poderá ser replanejada no tocante aos medicamentos utilizados e nos intervalos entre um procedimento e outro, haja vista a grande quantidade de resultados positivos nos exames coproparasitológicos;
- A inclusão dos testes sorológicos para pesquisa do *ophidian paramyxovirus* (OPMV) na rotina do manejo se torna essencial para evitar surtos inesperados como já ocorrido anteriormente. Além disso, a inclusão dos exames coproparasitológicos certamente proporcionará uma melhor avaliação do estado de saúde, permitindo a escolha de tratamentos alternativos proporcionando ao final melhor qualidade de vida aos animais.

Sugere-se à chegada de cada novo animal ao CEVAP:

- A realização do exame clínico, da biometria e do banho com Neguvon® (10g para 20 litros de água);
- A coleta de fezes para realização de exames coproparasitológicos pelas técnicas de sedimentação e flutuação para verificar ovos leves, pesados e oocistos;

- A coleta de sangue para realização de exame sorológico para OPMV;
- O tratamento anti-helmíntico com medicamentos sugeridos a seguir;
- A extração de veneno para pesquisa e depósito no Banco de Venenos do CEVAP;
- O alojamento em caixas individualizadas durante 30 dias na quarentena 1;
- Alimentação após 15 dias de chegada ao Centro;
- O alojamento em caixas individualizadas durante mais 30 dias na quarentena 2;
- Ao final, encaminhar o animal para o seu destino definitivo: os animais peçonhentos são direcionados para o cativeiro semiextensivo, se forem da espécie *Crotalus durissus terrificus*. As demais são direcionadas ao cativeiro intensivo onde ficam alojadas individualmente em caixas de polipropileno. As serpentes não peçonhentas são destinadas às baias individuais no museu de visitação.

Dentre as opções para um novo protocolo de vermifugação estão o levamisol injetável na dose 10 mg/kg de peso para eliminar nematódeos e praziquantel injetável na dose 8 mg/kg de peso para eliminar cestódeos. Ambos podem ser utilizados em conjunto, em duas doses, onde a segunda deverá ser repetida após 15 dias da primeira. Sugere-se análise coproparasitológica dos animais antes de se repetir um novo procedimento de vermifugação

Seguindo esta nova orientação, será possível a adaptação precoce ao cativeiro, menor espoliação de nutrientes pelos parasitas, melhor qualidade de vida, maior sobrevivência e conseqüentemente maior produção de peçonha com qualidade.

8. REFERÊNCIAS

1. COSTA, A.C.O.R., ALMEIDA-SANTOS S.M., et al. Manutenção de serpentes em cativeiro no Instituto Butantan: a longevidade dos gêneros Bothrops, Crotalus e Lachesis. In: *Publs Av Inst Pau-Brasil Hist Nat.*;8-9:p 63-8. 2005.
2. MELGAREJO-GIMÉNEZ, A.R. Criação e manejo de serpentes. In: **Animais de laboratório criação e experimentação**. Ed. Fiocruz. pp. 175 -99, 2002.
3. PACHALY, J.R. et al. Estresse por captura e contenção em animais selvagens. In: **A hora veterinária**, Porto Alegre, v.13, n.74, p.47-52. 1993.
4. MADER, D.R. Parasitology. In: Mader, D.R. (editor) **Reptile Medicine and Surgery**, Elsevier, St. Louis, pp. 343-364. 2006.
5. JACOBSON, E.R. Ophidian Paramyxovirus (OPMV). Disponível em: <http://labs.vetmed.ufl.edu/sample-requirements/microbiology-parasitology-serology/zoo-med-infections/opm/>>. Acesso em: 16 fev. 2014.
6. FUNK, R.S. Lizard reproductive medicine and surgery, **Veterinary Clinics North America: Small Animal Practice** . v.5, p. 579-613, 2002.
7. ROSSI, J.V. **Snakes of the United States and Canada: keeping them healthy in captivity**, eastern area, Malabar, Fla, Krieger Publishing. vol. 1, 1992.
8. CAMPAGNER, M.V. et al. Microbiological evaluation of different strategies for management of snakes in captivity. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v.75, p.1070-1080, 2012.
9. RODRIGUES, D.S. et al. Ciclo dioxênico em *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae) parasitando serpentes da família Viperidae. In: **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** (online) vol. 19 n.3 Jaboticabal. 2010.
10. ARAÚJO, T. MORO, L. et al. Occurrence of some endo and ectoparasites in the serpentarium of UNIFENAS. In: **Braz J Vet Res Anim Sci.** v. 36(1): p 19-22. 1999.
11. PEDRAZA-DÍAZ, S. et al. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from pet reptiles. In: **Veterinary Parasitology**, v 160, p 204-210. 2009.
12. JACOBSON, E.R. Viral diseases of reptiles. In Fowler, M.E. (editor) **Zoo e Wild Animal Medicine: current therapy 3**. Philadelphia, WB Saunders. P.153-159 1993.

13. WARWICK, C., FRYE, F.L., MURPHY, J.B. **Health and welfare of captive reptiles**. London (UK): Published by Chapman & Hall; 1995.
14. FOWLER, M.E. In: **Zoo & wild animal medicine**. 2nd ed. Philadelphia. WB Saunders Company, p. 34-35, 1986.
15. GUILLETTE L.J., CREE A. & ANDREW A.R. Biology of stress: interactions with reproduction, immunology and intermediary metabolism. In: **Health and Welfare of Captive Reptiles**. London (UK): Published by Chapman & Hall; 1995.
16. SPRAKER, T. Stress and capture myopathy in artiodactylids. In: Fowler, M.E. **Zoo & wild animal medicine**. 3 ed. Philadelphia : WB Saunders, p. 481-87.1993.
17. SELYE, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. In: **Nature**, London. V. 138, p. 32. 1936.
18. SELYE, H. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. In: **The journal of clinical endocrinology**, v. 6, n.2 p. 117-230. 1946.
19. DANTZER, R., MÓRMEDE, P. Fisiopatologia de la reacción a las agresiones. In: Dantzer, R, Mórmede. **El stress en la cria intensiva del ganado**. Zaragoza: Editorial Acríbia; p.41-86. 1984.
20. SELYE, H. **Stress – a tensão da vida**. 2^a ed. São Paulo: Ibrasa, 1959.
21. ROITIMAN, I. Stress ou estresse. In: **Mednews**, v. 13 p. 19-26. 1989.
22. GREKIN, R. A supra-renal. In: Mazzaferri, E.I. **Endoncrinologia**. Rio de Janeiro editora Guanabara Koogan, 3 ed., p.198-204. 1986.
23. BREAZILE, J.E. Physiologic basis and consequences of distress in animals. In: **Journal of the American Veterinary Medical Association**. Schaumburg, v.191, n.10, p. 1212-1215. 1987.
24. COOK, N.J. et al. Salivary vs. serum cortisol for the assessment of adrenal activity in swine. In: **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.76, p. 329-335. 1996.
25. TRAINER, P.J. et al. The pathophysiology of circulating corticotropin-releasing hormone-binding protein levels in the human. In: **Journal of Clinical Endocrinology and metabolism**, v. 83, n.5, p. 1611 -14. 1998.
26. CABANAC, M., BERNIERI, C. Behavioural rise in body temperature and tachycardia by handling of a turtle (*Clemmys insculpta*). In: **Behav Process** 49: p.61-68, 2000.

27. SAPOLSKY R. Stress, glucocorticoids, and damage to the nervous system: the current state of confusion. In: **Stress.**;1: 1-11. 1996.
28. MORGAN, K.N. & TROMBORG, C.T. Sources of stress in captivity. In: **Applied Animal Behaviour Science**, v. 102, p. 262-302, 2007.
29. BALCOMBE, J.P., BARNAD, N.D., SANDUSKY, C. Laboratory routines cause animal stress. In: **Contemp Top Lab Anim Sci**. 43(6): p 42-51. 2004.
30. GREGORY, L.F. et al. Plasma corticosterone concentrations associated with acute captivity stress in wild loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). In: **Gen Comp Endocrinol**. 104(3): p 312-20. 1996.
31. MOORE, I.T., LEMASTER, M.P., MASON, R.T. Behavioural and hormonal responses to capture stress in the male red-sided garter snake, *Thamnophis sirtalis parietalis*. In: **Anim Behav**. 59(3): p 529-34. 2000.
32. MATHIES, T., FELIX, T.A., LANCE, V.A. Effects of trapping and subsequent short-term confinement stress on plasma corticosterona in the brown treesnake (*Boiga irregularis*). In: **Guam Comp Endocrinol**. 124(1): p 106-14. 2001.
33. WARWICK, C. Important ethological and other considerations of the study and maintenance of reptiles in captivity. **Applied Animal Behaviour Science**. v.27, p.363-366, 1990.
34. FUNK, R.S. A formulary for lizards, snakes, and crocodylians. **Veterinary Clinical North American Exotic Animal Practice**. v. 3, p. 333-358, 2000.
35. SANTOS, E.O. **Mecanismos de estresse: impactos na saúde e na produção animal**. (Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal no programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS) – UFRGS, Porto Alegre, 2005.
36. COWAN, D.F. Diseases of captive reptiles. **Journal American Veterinary Medical Association**. v.153, p. 848, 1968.
37. SILVESTRE, A.M. How to assess stress in reptiles. In: **Journal of Exotic Pet Medicine** v. 23 pp 240-43. 2014.
38. MILLER, K., ERASMUS, B.F.N., ALEXANDER, G.J. Gut and intestinal passage time in the rainbow skink (*Trachylepis margaritifer*): implications for stress measures using faecal analysis. **J Anim Physiol Anim Nutr**, p.1-11, 2012.

39. BERKVEN, C.H. **Glucocorticoid analysis by enzyme immunoassay in mammals, birds and reptiles**. Doctoral thesis, University of Guelph, Canada. 2012.
40. AL-JOHANY, A.M., HAFFOR, A.S. Increased antioxidant and white blood cell counts and decreased free radical production during mild heat stress in *Uromastix Aegyptus*. In: **J Med Sci** v. 5 p. 311-15. 2005.
41. DAVIS, A.K. et al. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. **Funct Ecol** v. 22 p. 760-72. 2008.
42. ROSA, G.A. et al. Perfil hematológico de cordornas japonesas (*Coturnix japonica*) sob estresse térmico. In: **Ciência Rural**, Santa Maria, Online. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/2011nahead/a9511cr4368.pdf> Acesso em outubro de 2014.
43. WARWICK, C. et al. Assessing reptile welfare using behavioural criteria. In: **Pract** 35: 123-131. 2013.
44. POUGH, F.H. Recommendations for the care of amphibians and reptiles in academic institutions. In: **ILAR News**. 33(4): 51-2. 1991.
45. CHRISZAR D. et al. Behavioural consequences of husbandry manipulations: indicators of arousal and environmental awareness. In: Warwick C, Frye FL, Murphy JB editors. In: **Health and welfare of captive reptiles**. London: Chapman & Hall. p.186-204. 1995.
46. SONODA, M.C., GASPARINI, R.L. & CATÃO-DIAS, J.L. Miopatia de captura em cervos do patanal (*Blastocerus dichotomus*). In: **XV Congresso Panamericano de ciências veterinárias**. Anais, p.81. 1996.
47. KLINGENBERG, R.J. Understanding reptile parasites. A basic manual for herpetoculturist & veterinarians. **The Herpetocultural Library**. 1993.
48. RATAJ, A.V. et al. Parasites in pet reptiles. In: **Acta Veterinaria Scandinavica** p.33-53. 2011.
49. MCFARLEN, J. Commonly occurring reptilian intestinal parasites. In: **Proceedings of the American Association of Zoo Veterinarians**. Calgary, Canada, pp. 120-127, 1991.
50. DOCV, A. et al. Health status of wild varanus captured from nature. In: Proceedings of the 1st Croatia – Slovenian symposium about exotic and wild animals; November 2004, Croatia. **Croatian Veterinary Society and Slovenian Veterinary Association**; p.21-23, 2004.

51. BARBOSA, A.R., ALBUQUERQUE, H.N., SILVA, H., RIBEIRO, I.A.M. Contribuição ao estudo parasitológico de jiboias, *Boa constrictor constrictor* Linnaeus, 1758, em cativeiro. In: **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.6, n.2, p. 1-18, 2006.
52. HANSON, B.A. et al. Tick paralysis of a snake caused by *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae). In: **Journal of Medical Entomology**, v.44, n.1, p. 155-157, 2007.
53. LABRUNA, M.B., TERRASSINI, F.A., CAMARGO, L.M.A. First report of the male of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) from a field-collected host. In: **Journal of Medical Entomology**, v.42, n. 6, p. 945-7, 2005.
54. GLASER, V., BONI, A.P., ALBUQUERQUE, C.A.C. Ocorrência de *Hepatozoon* spp. (Apicomplexa, Hepatozoidae) em serpentes do gênero *Bothrops* de cativeiro – comunicação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.5, p.1288-1290, 2008.
55. KOLESNIKOVAS, C.K.M. et al. Ordem Squamata – Subordem Ophidia (serpente) In: **Tratado de Animais Selvagens**. Ed. Roca, p. 68-85, 2006.
56. LABRUNA, M.B. et al. Hyperparasitism in *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae). In: **Journal of Parasitology**, v. 93, n.6, p. 1531-1532, 2007.
57. BRUM, J.G.W. & RICKERS, E.M. *Amblyomma dissimile* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) em serpente sucuri (*Eunectes murinus*) (Reptilia: Boidae) no parque zoológico do Rio Grande do Sul. In: **Arq Inst Biol**, v. 70, n.2, p. 215-216, 2006.
58. ARAGÃO, H. Ixodidas brasileiros e de alguns países limítrofes. In: **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 31, p. 759-843, 1936.
59. CUNHA, M.C.A.L. et al. Ocorrência de *Amblyomma fuscum* Neuman, 1907 (Acari: Ixodidae) em *Boa constrictor* Linnaeus, 1758 (Reptilia: Boidae) no estado de Pernambuco, Brasil. In: **Entomología y Vectores**, v. 6, n. 5, p. 577-9, 1999.
60. DANTAS-TORRES, F. et al. Ticks infesting amphibians and reptiles in Pernambuco, northeastern Brazil. In: **Rev Bras Parasitol Vet**, 17,4, pp.218-221, 2008.
61. MURRAY, M.J. Cardiology and circulation. In: MADER, D.R. **Reptile medicine and surgery**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1996. P. 85-104.

62. RODRIGUES D.S., MACIEL R., CUNHA L.M., LEITE R.C., OLIVEIRA P.R. *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae) two-host life-cycle on Viperidae snakes. In: **Rev Bras Parasitol Vet** v. 19(3), p.174-178, 2010.
63. FITZGERALD, K.T. & VERA, R. Acariasis. In: MADER, **Reptile Medicine and Surgery**, Philadelphia: W.B. Saunders Company, p.720-741, 1996.
64. CAMIN, J.H. Observations on the life history and sensory behavior of the snake mite *Ophionyssus natricis* (Gervais). In: **Chicago Academy of Science Special Publication** 10: p. 1-75, 1953.
65. MELLO, E.M. **Endo e ectoparasitos de serpentes *Crotalus durissus* Linnaeus, 1758 (Viperidae) de algumas localidades de Minas Gerais**. Dissertação de mestrado pelo programa de pós-graduação em parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais, 2013.
66. SAGGESE, M. D. Clinical approach to the anemic reptile. In: **Journal of Exotic Pet Medicine**, vol. 18, n°2, pp 98-111. 2009.
67. SCHUMACHER, J., JACOBSON, E.R. et al. Inclusion body disease in boid snakes. In: **J Zoo Wildlif Med**, v. 25, n. 4, p. 511-24. 1994.
68. DENARDO, D., WOZNIAK, E.J. Understanding the snake mite and current therapies for its control. In: **Proceedings of the Fourth Annual Conference of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians**, pp.137-147, 1997.
69. WILSON, S.C & CARPENTER, J.W. Endoparasitic diseases of reptiles. In: **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, Elsevier, v. 5 (2), p.64-74, 1996.
70. BENSON. Reptilian gastrointestinal diseases. In: **Journal of exotic pet medicine**, seminars in avian and exotic pet medicine. v.8, n.2: p. 90-97, 1999.
71. SOUZA, J.L. et al. Parasitological and immunological diagnosis from feces of captive-bred snakes at Vital Brazil Institute. In: **Braz J Vet Parasitol**. Jaboticabal. V. 23, n.2, p. 123-128, 2014.
72. SCHAD, G.A. Studies on the genus *Kalicephalus* (Nematoda: Diaphanocephalidae). In: On the life histories of the North American Species *K. parvus*, *K. agkistrodontis*, and *K. rectiphilus*. **Can J Zool**, v.34, n. 5, p. 425-452, 1956.

73. SILVA, R.J., BARELLA, T.H., NOGUEIRA, M.F., O'DWYER, L.H. Frequency of helminths in *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes, Viperidae) in captivity. **Rev Bras Parasitol Vet**: v. 10, n.2 p. 91-93, 2001.
74. ROSSELINE, M. Caracterização da helmintofauna de *Helicops leopardinus* (serpentes, colubridae) do Pantanal do sul, Mato Grosso do Sul, **Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu**, 57pp, 2007.
75. GREGO K.F., GARDINER C.H., CATÃO-DIAS J.L. Comparative pathology of parasitic infections in free-ranging and captive pit vipers (*Bothrops jararaca*). In: **Vet Rec**, v.154 (18), p. 559-562, 2004.
76. RUBIÃO, E.C.N. **Nematoides parasitas de jararaca (*Bothrops jararaca* Wied, 1824) mantidas no serpentário do Instituto Vital Brazil: aspectos patológicos** [Dissertação]. Niterói: Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, 1999.
77. DIAS, R.J.P., ALMEIDA, S.J.B., PRIETO, D.B. LIMA, S.S. Aspectos ecológicos dos nematoides parasitos de *Crotalus durissus terrificus* Laurenti, 1768 (Ophidia, Viperidae), em Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. **Rev Bras Zoocienc**, v.6, n.2, p. 219-230. 2004.
78. TKACH, V.V., KUZMIN, Y., SNYDER, S.D. Molecular insight into systematics, host associations, life cycles and geographic distribution of the nematode family Rhabdiasidae. **International Journal for Parasitology**, 44, p. 273-284, 2014.
79. PINTO, R.M., et al. Nematode parasites of the Neotropical rattlesnake, *Crotalus durissus* Linnaeus, 1758 (Ophidia, viperidae) from Brazil: new records and general aspects. In: **Neotrop Helminthol.** v.4, n.2, p. 137-147, 2010.
80. MITCHELL, M.A. Parasites of reptiles, chapter 9. In: Baker, D.G. (ed), **Flynn's Parasites of Laboratory Animals**, 2nd ed., Blackwell Publishing, p. 177-216, 2007.
81. LANGFORD, G.J. **Ecology and relationship of *Rhabdias* spp. (Nematoda: Rhabdiasidae)**. In: North American amphibians and reptiles, PhD thesis, University of Nebraska at Lincoln, 140 p. 2010.
82. TAYLOR, M.A., COOP, R.L., WALL, R.L. In: **Parasitologia Veterinária**, 3 ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 768pp, 2010.

83. NOGUEIRA, M.F. **Estudo de paramyxovirus, Mycoplasma e de bacilos gram-negativos no trato respiratório de serpentes *Crotalus durissus terrificus***. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 184 pp., 2004.
84. SANTOS, K.R. Implicações do parasitismo por nematódeos do gênero *Rhabdias* (Nematoda, Rhabdiasidae) em *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes, Viperidae): alterações pulmonares, microbiológicas e hematológicas. In: **Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho**, 57 pp., 2005.
85. ANDERSON, R.C. **Nematode parasites of vertebrates. Their development and transmission**. 2nd ed. CAB International, Wallingford, 650pp. 2000.
86. YAMAGUTI, S. **Systema Helminthum – The Cestodes of Vertebrates**. In: Interscience Publ, v. 2, 860 p., 1959.
87. FAYER, R.; SANTÍN, M.; TROUT, J.M. *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos Taurus*). In: **Veterinary Parasitology**, v.156, p. 191-198, 2008.
88. CACCIO, S.M. et al. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. In: **Trends in Parasitology**, v. 21, p.430-437, 2005.
89. FAYER, R.; SANTIN, M.; XIAO, L. *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). In: **Journal of Parasitology**, v.91, p.654-629, 2005.
90. JORGE, F.; CARRETERO, M.A.; ROCA, V.; POULIN, R.; PERERA, A. What you get is what they have? Detectability of intestinal parasites in reptiles using faeces. In: **Parasitol Res**, v. 112, p. 4001-4007, 2013.
91. MIHALCA, A.D. Um studiu coproparazitologic la reptile captive. In: **Scientia Parasitologica**, v. 3, p. 159-163, 2002.
92. TRAVERSA, D., IORIO, R. OTRANTO, D., MODRÝ, D., SLAPETA, J. *Cryptosporidium* from tortoises, genetic characterization, phylogeny and zoonotic implications. In: **Molecular and Cellular Probes**, v. 22, p. 122-128, 2008.
93. RADHAKRISHNAN, S. et al. Endoparasitism in captive wild-caught snakes indigenous to Kerala, India. In: **Zoo Biology**, v. 28, p. 253-258, 2009.
94. BARNARD, S.M. A review of some fecal pseudoparasites of reptiles. In: **J Zoo Anim Med**, v. 14, p. 79-88, 1983.

95. TEIXEIRA, V.N. In: **Levantamento da Helmintofauna de Serpentes Peçonhentas no Estado do Paraná**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, 98pp., 2000.
96. ARIKAN, H. & ÇIÇEK, K. Haematology of amphibians and reptiles: a review. In: **North-Western Journal of Zoology**. V.10 (1): pp 190-209. 2014.
97. CAMPBELL, T.W. Hemoparasites. In: Mader, D.R. (editor). **Reptile Medicine and Surgery**. Philadelphia, WB Saunders. Cap. 55, p. 801 – 805. 1996.
98. WOZNIAK, E.J. et al. The fate of Hepatozoon species naturally infecting Florida black racers and watersnakes in potential mosquito and soft tick vectors and histological evidence of pathogenicity in unnatural host species. In: **Int J Parasitol**. 21: pp 511-516. 1991.
99. WOZNIAK, E.J. et al. Employment of the polymerase chain reaction in the molecular differentiation of reptilian hemogregarines and its application to preventative zoological medicine. **J Zoo Wild Med**, 25: pp 538-49. 1994.
100. NARDINI, G., LEOPARDI, S, BIELLI, M. Clinical hematology in reptilian species. In: **Vet Clin Exot Anim** 16 1–30, 2013.
101. TELFORD Jr, S.R. **Hemoparasites of the reptilian**. Boca Raton (FL): CRC Press; 2008.
102. STACY, N.I., ALLEMAN, A.R., SAYLER, K.A. Diagnostic Hematology of Reptiles. In: *Clin Lab Med*. v 31 pp 87-108. 2011.
103. CLARK, K.A. et al. Hepatozoon procyonis infections in Texas. In: **J. Wildl. Dis**. 9: pp 182-193. 1973.
104. GÖBEL, E. & KRAMPITZ, H.E. Histologische Untersuchungen zur gamonie und sporogonie von *Hepatozoon erhardovae* in experimentell infizierten Rattenflöen (*Xenopsylla cheopis*). In: **Zeitschrift für Parasitenkunde**.v. 67: pp 261-271, 1982.
105. TELFORD Jr, S.R. Haemoparasites of reptiles. In: HOFF, G.L., FRYE, F.L. & JACOBSON, E.R. (Eds), **Diseases of amphibians and reptiles**. Plenum express, New York. Pp 385 – 517. 1984.
106. PESSOA, S.B. Notas sobre hemogregarinas de serpentes brasileiras. I: Hemogregarinas de algumas espécies de serpentes da família Colubridae. In: **Rev. Bras. Biol**. v. 27 pp 34-45.1967.

107. MOÇO, T.C. et al. Morphologic and morphometric analysis of Hepatozoon spp. (Apicomplexa, Hepatozoidea) of snakes. In: **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, vol. 97(8): pp 1169-76, 2002.
108. HYNDMAN *et al.* Paramyxoviruses in reptiles: A review. **Veterinary Microbiology**, 165. Pp. 200-213. 2013.
109. FOLSCH, D.W., LELOUP, P. Fatal endemic infection in a serpentarium, diagnosis, treatment and preventive measures. In: **Tierarztl. Prx.** 4, pp. 527-536. 1976.
110. KEEBLE, E. Neurology. In: **BSAVA Manual of reptiles**. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, pp. 273-288. 2004.
111. NOGUEIRA, M.F. et al. Isolation of an ophidian paramyxovirus (OPMV) in a captive rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) from Botucatu, São Paulo state, Brazil. In: **J. Venom. Anim. Toxins** vol. 8 no. 168-173. 2002.
112. JACOBSON, E.R. *et al.* Epizootic of ophidian paramyxovirus in a zoological collection: pathological, microbiological, and serological findings. **J. Zoo Wildlife Med.** 23, 318-327. 1992.
113. JACOBSON, E.R. *et al.* Pulmonary lesions in experimental ophidian paramyxovirus pneumonia of Aruba Island Rattlesnakes, *Crotalus unicolor*. **Vet. Pathol.** 34, 450-459. 1997.
114. KOLESNIKOVAS, C.K.M. *et al.* Ophidian paramyxovirus in Brazilian vipers (*Bothrops alternatus*). **Vet. Record**, 159, pp. 390- 392. 2006.
115. PAPP, T. *et al.* RT-PCR diagnosis followed by sequence characterization of paramyxoviruses in clinical samples from snakes reveals concurrent infections within populations and/or individuals. **Vet. Microb.** 144. Pp 466-472. 2010a.
116. PAPP, T. *et al.* Paramyxovirus infection in a leopard tortoise (*Geochelone pardalis babcocki*) with respiratory disease. **J. Herpetol. Med. Surg.** 20, pp.64-68. 2010b.
117. CRANFIELD, M.R; GRACZYK, T.K. Ophidian Paramyxovirus. In: Mader, D. (editor). **Reptile Medicine and Surgery**. Philadelphia, WB Saunders. 1996. Cap. 63, p. 858-861. 1996.
118. LEROY EM, POURRUT X, ROUQUET P, HASSANIN A, YABA P, DÉLICAT A, PAWESKA JT, GONZALEZ JP, SWANEPOEL R. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus, Brief communication In: **Nature**, 438:1,pp.575-6, 2005.

119. YUAN J, ZHANG J, LI J, ZHANG Y, WANG LF, SHI Z. Serological evidence of ebolavirus infection in bats, China. In: **Virology Journal** 9: p.236. 2012.
120. PASMANS, F. *et al.* Introducing reptiles into a captive collection: the role of the veterinarian. **Vet. J.** 175, pp 53-58. 2008.
121. OROS, J. *et al.* Immunohistochemical detection of ophidian paramyxovirus in snakes in the Canary Islands. **Vet. Record**, 149, pp.21-23. 2001.
122. JACOBSON, E.R. *et al.* Antibody responses of Western Diamondback rattlesnakes (*Crotalus atrox*) to inactivated ophidian paramyxovirus vaccines. **J. Zoo Wildlife Med.** 22, 184-190. 1991
123. LLOYD, M.L., FLANAGAN, J. Recent developments in ophidian paramyxovirus research and recommendations on control. In: **Proceedings of the American Association of Zoo Veterinarians.** Pp 148-153. 1991.
124. BRONSON, E., CRANFIELD, M.R. Paramyxovirus. In: Mader, D.R. (editor) **Reptile Medicine and Surgery**, Elsevier, St. Louis, pp. 858-861. 2006.
125. MARSCHANG, R.E., CHITTY, J. Infectious diseases. In: **BSAVA Manual os Reptiles.** British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, pp. 330-345. 2004.
126. RITCHE, B. Virology. In: **Medicine and Surgery of Reptiles.** Elsevier, St. Louis, pp. 391- 417. 2006.
127. JACOBSON, E.R. Viruses and viral diseases of reptiles. In: **Infectious diseases and pathology of reptiles**, Taylor & Francis Group, LLC, Florida. Pp. 395-460. 2007.
128. QUINN, P.J. *et al.* Paramyxoviridae. In: **Veterinary Microbiology and Microbial Disease.** Blackwell Science Ltd. Oxford. Pp 381-389. 2002.
129. ALLENDER, M.C. *et al.* Measuring agreement and discord among hemagglutination inhibition assays against different ophidian paramyxovirus strains in Eastern massasauga (*Sistrurus catenus catenus*). **J. Zoo Wild-life Med.** 39, 358-361. 2008.
130. BLAHAK, S. Isolation of paramyxoviruses from snakes and their relationship to Avian Paramyxoviruses. **Zentralbl Veterinarmed B.** 42, 216-224. 1995.
131. HOMER, B.L. *et al.* Immunoperoxidase detection of ophidian paramyxovirus in snake lung using polyclonal antibody. **J. Vet. Diagn. Invest.** 7, 72-77. 1995.
132. SAND, M.A. *et al.* Molecular diagnosis of paramyxovirus infection in snakes using reverse transcriptase-polymerase chain reaction and complementary

- deoxyribonucleic acid in situ hybridization. **J. Vet. Diag. Invest.** 16, pp 442-448. 2004.
133. ARAÚJO JUNIOR, J.P. **ELISA de bloqueio em fase líquida com diluição única para quantificação de anticorpos contra o paramyxovírus ofídico em soros de serpentes.** 1996. 28f. Tese de livre docência, UNESP-Botucatu, São Paulo. 1996.
134. MADER, DR. Normal hematology of reptiles. In: **Schalm's Veterinary Hematology**. 5th ed. Pp 1126 – 32. 2000.
135. ALLEMAN A.R., JACOBSON, E.R., RASKIN R.E. Morphologic, cytochemical staining and ultrastructural characteristics of blood from eastern diamondback rattlesnakes (*Crotalus adamanteus*). In: **Am J Vet Res** 60: 507-14, 1999.
136. HAWKEY, C.M., DENNETT, T.B. **Color atlas of comparative veterinary hematology: normal and abnormal blood cells in mammals, birds and reptiles.** Ames (IA): Iowa State University Press; 1989.
137. MITCHELL M.A. & TULLY T.N.Jr. **Manual of exotic pet practice.** Elsevier. p. 136 - 162. 2009.
138. CAMPBELL, T.W., ELLIS, C.K. Hematology of reptiles. In: Campbell TW, Ellis CK (eds): **Avian and Exotic Hematology and Cytology.** Ames, IA, Blackwell publishing, pp 51-81, 2007.
139. HAWKEY, C.M. et al. Erythrocyte size, number and hemoglobin content in vertebrates. **Br J Hematol** 77: 392-97, 1991.
140. CAMPBELL, T.W. Clinical Pathology of Reptiles. In: Mader, D.R. (editor). **Reptile Medicine and Surgery.** Philadelphia, WB Saunders. Cap. 28, p. 453 – 470. 1996.
141. AZEVEDO, A., LUNARDI, L.O. Cytochemical characterization of eosinophilic leukocytes circulating in the blood of the turtle (*Chrysemys dorsibignih*). In: **Acta Histochem**, 105 (1): 99-105. 2003.
142. RASKIN, R.E. **Reptilian Complete Blood Count.** In: Fudge, A.M. Laboratory Medicine: Avian and Exotic Pets. Philadelphia WB Saunders Co. p. 193-197. 2000.
143. THRALL, M.A. et al. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry.** USA. Lippincott Williams & Wilkins. p.248-263, 2004, 1.ed.

144. FRYE, F.L. Hematology as applied to clinical reptile medicine. In: Frye, F.L., editor. **Biomedical and surgical aspects of captive reptile husbandry**, vol. 1. 2nd edition. Melbourne (FL): Kreiger. Pp 209-77. 1991.
145. STACY, B.A., PESSIER, A.P. Host response to infectious agents and identification of pathogens in tissue sections. In: Jacobson, E.R. editor. **Infectious diseases and pathology of reptiles**. Boca Raton (FL): CRC press; pp260-261, 2007.
146. SYKES, J.M., KLAPHAKE, E.: Reptile hematology. In: **Vet Clin North Am (Exotic Anim Pract)** 11: 481-500, 2008.
147. NEVILL H: Diagnosis of non traumatic blood loss in birds and reptiles. In: **Journal of Exotic Pet Medicine** 18: 140-145, 2009.
148. SALAKIJ, C. et al. Hematology, morphology and ultrastructural characteristics of blood cells in king cobras (*Ophiophagus hannah*). **Vet Clin Pathol**. 31: pp 116-26. 2002.
149. MOLINA-PRESCOTT, I. et al. Hematología y bioquímica sanguínea em el Camaleón común (*Chamaeleo chamaeleon*). In: **VII congreso anual de la sociedad española de medicina veterinaria**, Las Palmas de Gran Canaria. Anais. Las Palmas de Gran Canaria: Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria, p.17-23. 2001.
150. SILVA, W.B. et al. Bioquímica plasmática de cascavéis (*Crotalus durissus* LINNAEUS, 1758) em cativeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.12 p. 2510-2514, dez, 2010.
151. DIVERS, S.J. Reptilian Liver and Gastrointestinal Testing. In: **Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets**. Alan M. Fudge (editor). Cap.23 pp 205-209. 2000.
152. TROIANO, J.C. et al. Valores de los principales parâmetros de la bioquímica sanguínea de *Eunectes notaeus* (Ophidia, Boidae). In: **Facena**, v. 11, p 51-55. 1995.
153. TROIANO, J.C. et al. Blood biochemical profile of the South American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) in captivity. In: **Journal of Venomous Animal and Toxins**, v.7, n.2, p. 183-9. 2001.
154. SILVA, R.J.; NOGUEIRA, M.F.; BARRELLA, T.H.; TAKAHIRA, R.K. Frequency of rhabdiasid nematodes in wild *Crotalus durissus terrificus* (SERPENTES, VIPERIDAE) from Botucatu region, São Paulo state, Brazil. In:

- J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.** Short communication, v.13, p. 122-129, 2007.
155. FERREIRA JUNIOR, R.S. et al. Comparison of wildlife and captivity rattlesnakes (*Crotalus durissus terrificus*) microbiota. In: **Pesq. Vet. Bras.** V. 29 (12) p. 999-1003, 2009.
156. MEREDITH A. & JOHNSON-DELANEY C. **BSAVA Manual of Exotic Pets: Snakes.** Publisher BSAVA. 5th p. 244-245. 2010.
157. WILLIS, H.H. A simple levitation method for the detection of wookworm ova. In: **Medicine Journal of Australia**, v.8, p.375-376, 1921.
158. FAUST, E.C et al. A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cyst and helminth eggs in feces. I . Preliminary communication. In: **Amer J Trop Med**, v. 18, p. 169-183, 1938.
159. GOLDENFARB, P.B. et al. Reproductibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. In: **American Journal of clinical Pathology**, Philadelphia, v.56,n.1, p.35-39, 1971.
160. SILVA, J.C.R., CORREA, S.H.R. Manejo e biosseguridade. In: Cubas Z.S., Silva, J.C.R., Catão-Dias, editores. **Tratado de animais selvagens – medicina veterinária.** São Paulo: Roca, p. 1226-44, 2007.

9. ANEXOS

ANEXO I

Tabela 1. Tempo de resposta (liberação de corticosterona) após estímulo estressor

Estressor	Tempo
Captura	3 minutos a 6 horas
Exposição ao frio e calor	15 a 25 minutos
Injeção de solução salina hiperosmótica	30 minutos
Mudança de ambiente	30 minutos
Coleta de sangue	1 a 4 horas
Manejo exacerbado	4 a 8 horas
Injeção de fluido hipotônico	8 dias
Exposição à água salgada	1 a 4 semanas
Exposição à hierarquia com machos dominantes	10 a 30 dias
Superpopulação	10 a 14 dias
Baixa umidade relativa	3 semanas

O tempo de resposta é considerado como o tempo para a estimulação da liberação de corticosteróides.

*Tabela adaptada do trabalho de Silvestre (2014) (36).

ANEXO II – Tabela coproparasitológica

Tabela 2. Ovos e oocistos de endoparasitas encontrados nas serpentes, de acordo com cada local estudado e de cada espécie.

Local Identificação	Coccídeo	Estrongilídeo	Trematódeo	Oxiurídeo	Ascarídeo
1 SI/Bjsu				++	
2 SI/Ba					
3 SI/Ba	+++		+	+++	
4 SI/Ba		+		++	
5 SI/Ba					
6 SI/Ba		+		++	
7 Q2/SI/Bm				++	
8 Q2/B6/Cdt	++				
9 Q2/B6/Cdt					
10 Q2/B6/Cdt					
11 Q2/B4/Cdt	++			++	
12 SI/Cdt					
13 SI/Cdt				+++	
14 SI/Cdt					
15 SI/Cdt	+				
16 SI/Cdt				+	
17 SI/Cdt					
18 B5/B6/Cdt	+++			+	Apenas parasita adulto
19 B6/Cdt	+++			++	
20 B6/Cdt					

21 B6/Cdt		
22 B6/Cdt		
23 B6/Cdt		
24 B6/Cdt		
25 B6/Cdt		
26 B6/Cdt	+	+++
27 B6/Cdt		
28 B6/Cdt		
29 B6/Cdt		
30 B3/Cdt	+	++
31 B3/Cdt		
32 B3/B2/Cdt		
33 MU/Pmb	+	
34 MU/Pmb		
35 MU/Bca		
36 MU/Hg		
37 MU/Em		
38 MU/En		
39 MU/Cdt		
40 MU/Cdt		
41 MU/Ba		
42 MU/Bjsu		

Legenda: **SI** sala interna; **MU** museu; **B** baias; **Q** quarentenas; **Bjsu** *B. jararacussu*; **Ba** *B. alternatus*; **Bm** *B. moojeni*; **Cdt** *C. durissus terrificus*; **Pmb** *P. molurus bivitatus*; **Bca** *B. constrictor amarali*; **Hg** *H. gigas*; **Em** *E. murinus*; **En** *E. notaeus*

ANEXO III – Tabelas hematológicas individuais

Tabela 3. Resultados dos testes hematológicos: hematócrito, número total de hemácias e proteínas plasmáticas totais.

Identificação/Local/Espécie	Hematócrito (%)	Hemácias Totais (/μL)	Proteínas plasmáticas totais (g/dL)
1 SI/Bjsu	24	323200	4,6
2 SI/Ba	28	393900	5,4
3 SI/Ba	25	267650	4,0
4 SI/Ba	27	545400	4,8
5 SI/Ba	16	308050	3,6
6 SI/Ba	24	328250	4,8
7 Q2/SI/Bm	26	535300	7,4
8 Q2/B6/Cdt	17	AMI	3,8
9 Q2/B6/Cdt	25	393900	6,0
10 Q2/B6/Cdt	30	555500	4,6
11 Q2/B4/Cdt	24	338350	4,8
12 SI/Cdt	26	515100	4,8
13 SI/Cdt	29	409050	5,2
14 SI/Cdt	30	474700	5,2
15 SI/Cdt	33	484800	5,4
16 SI/Cdt	35	505000	5,6
17 SI/Cdt	34	510050	5,2
18 B5/B6/Cdt	30	449450	5,8
19 B6/Cdt	33	358550	6,0
20 B6/Cdt	16	282800	3,4

21 B6/Cdt	28	348450	4,4
22 B6/Cdt	29	499950	6,4
23 B6/Cdt	21	343400	4,6
24 B6/Cdt	35	600950	6,4
25 B6/Cdt	36	449450	5,8
26 B6/Cdt	28	419150	6,0
27 B6/Cdt	25	419150	6,2
28 B6/Cdt	32	449450	5,6
29 B6/Cdt	31	474700	5,0
30 B3/Cdt	23	303000	4,8
31 B3/Cdt	AMI	AMI	AMI
32 B3/B2/Cdt	20	303000	5,4
33 MU/Pmb	35	762550	7,2
34 MU/Pmb	27	560550	4,6
35 MU/Bca	24	424200	6,0
36 MU/Hg	23	368650	4,4
37 MU/Em	24	323200	4,8
38 MU/En	24	555500	7,2
39 MU/Cdt	21	297950	5,6
40 MU/Cdt	27	383800	6,4
41 MU/Ba	34	489850	5,6
42 MU/Bjsu	8	156550	4,2

Tabela 4. Resultados dos testes hematológicos: número de leucócitos, leucócitos totais e principais observações.

Identificação/Local/Espécie	N° Leucócitos	Leucócitos Totais (μL)	Observações
1 SI/Bjsu	7	7070	Amostras com agregados trombocitários
2 SI/Ba	9	9090	
3 SI/Ba	4	4040	
4 SI/Ba	3	3030	
5 SI/Ba	18	18180	
6 SI/Ba	10	10100	Agregados trombocitários e discreta policromasia
7 Q2/SI/Bm	26	26260	
8 Q2/B6/Cdt	0	0	Amostra hemodiluída e hemolisada. Plasma moderadamente hemolisado
9 Q2/B6/Cdt	18	18180	
10 Q2/B6/Cdt	8	8080	
11 Q2/B4/Cdt	20	20200	
12 SI/Cdt	3	3030	
13 SI/Cdt	5	5050	
14 SI/Cdt	20	20200	
15 SI/Cdt	7	7070	
16 SI/Cdt	24	24240	
17 SI/Cdt	3	3030	
18 B5/B6/Cdt	24	24240	
19 B6/Cdt	12	12120	Presença de hemogregarina
20 B6/Cdt	5	5050	Discreta anisocitose com presença de eritrócitos jovens

21 B6/Cdt	9	9090	
22 B6/Cdt	15	15150	Discreta anisocitose com presença de eritrócitos jovens
23 B6/Cdt	10	10100	
24 B6/Cdt	13	13130	
25 B6/Cdt	11	11110	Plasma discretamente hemolisado
26 B6/Cdt	5	5050	
27 B6/Cdt	18	18180	
28 B6/Cdt	15	15150	
29 B6/Cdt	4	4040	
30 B3/Cdt	3	3030	
31 B3/Cdt	AMI	AMI	
32 B3/B2/Cdt	18	18180	
33 MU/Pmb	30	30300	
34 MU/Pmb	39	39390	
35 MU/Bca	19	19190	
36 MU/Hg	23	23230	
37 MU/Em	13	13130	
38 MU/En	19	19190	
39 MU/Cdt	44	44440	
40 MU/Cdt	9	9090	
41 MU/Ba	19	19190	
42 MU/Bjsu	5	5050	Plasma discretamente icterico

AMI = amostra insuficiente.

Tabela 5. Resultados dos testes hematológicos: heterófilos e linfócitos

Identificação/Local/Espécie	Heterófilos (%)	Heterófilos Totais (μL)	Linfócitos (%)	Linfócitos Totais (μL)
1 SI/Bjsu	13	919,1	64	4524,8
2 SI/Ba	20	1818	40	3636
3 SI/Ba	29	1171,6	36	1454,4
4 SI/Ba	31	939,3	45	1363,5
5 SI/Ba	15	2727	75	13635
6 SI/Ba	19	1919	42	4242
7 Q2/SI/Bm	6	1575,6	71	18644,6
8 Q2/B6/Cdt	6	0	71	0
9 Q2/B6/Cdt	20	3636	7	1272,6
10 Q2/B6/Cdt	25	2020	63	5090,4
11 Q2/B4/Cdt	15	3030	75	15150
12 SI/Cdt	15	454,5	71	2151,3
13 SI/Cdt	8	404	59	2979,5
14 SI/Cdt	9	1818	73	14746
15 SI/Cdt	10	707	69	4878,3
16 SI/Cdt	9	2181,6	76	18422,4
17 SI/Cdt	23	696,9	50	1515
18 B5/B6/Cdt	6	1454,4	81	19634,4
19 B6/Cdt	9	1090,8	79	9574,8
20 B6/Cdt	8	404	76	3838
21 B6/Cdt	20	1818	64	5817,6

22 B6/Cdt	9	1363,5	82	12423
23 B6/Cdt	10	1010	78	7878
24 B6/Cdt	12	1575,6	68	8928,4
25 B6/Cdt	44	4888,4	42	4666,2
26 B6/Cdt	13	656,5	70	3535
27 B6/Cdt	10	1818	82	14907,6
28 B6/Cdt	11	1666,5	80	12120
29 B6/Cdt	12	484,8	64	2585,6
30 B3/Cdt	14	424,2	50	1515
31 B3/Cdt	AMI	AMI	AMI	AMI
32 B3/B2/Cdt	14	2545,2	71	12907,8
33 MU/Pmb	18	5454	59	17877
34 MU/Pmb	20	7878	55	21664,5
35 MU/Bca	18	3454,2	49	9403,1
36 MU/Hg	15	3484,5	44	10221,2
37 MU/Em	12	1575,6	57	7484,1
38 MU/En	16	3070,4	56	10746,4
39 MU/Cdt	10	4444	79	35107,6
40 MU/Cdt	24	2181,6	73	6635,7
41 MU/Ba	19	3646,1	68	13049,2
42 MU/Bjsu	7	353,5	84	4242

Tabela 6. Resultados dos testes bioquímicos. Parâmetros de albumina, proteínas totais, ácido úrico e AST.

Identificação/Local/Espécie	Albumina (g/dL)	Proteínas Totais (g/dL)	Ácido úrico (mg/dL)	AST (U/L)
1 SI/Bjsu	1,39	2,8	22,4	7
2 SI/Ba	2,51	4,6	38,8	AMI
3 SI/Ba	1,70	2,8	12,1	4
4 SI/Ba	1,61	4,2	6,7	5
5 SI/Ba	1,14	3,2	2,7	3
6 SI/Ba	2,11	3,9	1,5	4
7 Q2/SI/Bm	2,44	5,5	2,8	13
8 Q2/B6/Cdt	1,19	2,6	8,9	40
9 Q2/B6/Cdt	2,23	4,4	3,3	16
10 Q2/B6/Cdt	1,47	3,5	2,9	85
11 Q2/B4/Cdt	1,32	3,3	1,8	8
12 SI/Cdt	1,56	3,2	2,2	113
13 SI/Cdt	1,64	3,7	2,1	34
14 SI/Cdt	1,72	3,6	1,8	2
15 SI/Cdt	1,61	3,8	2,2	77
16 SI/Cdt	1,80	4,1	2,9	11
17 SI/Cdt	1,83	3,8	2,6	13
18 B5/B6/Cdt	1,61	3,8	1,8	12
19 B6/Cdt	2,01	4,0	2,3	160
20 B6/Cdt	1,19	2,9	1,2	3
21 B6/Cdt	2,26	3,5	2,3	4

22 B6/Cdt	2,32	4,9	1,5	14
23 B6/Cdt	1,65	3,1	1,2	29
24 B6/Cdt	2,11	4,4	5,2	11
25 B6/Cdt	1,92	4,4	2,6	53
26 B6/Cdt	1,99	4,3	19,2	53
27 B6/Cdt	2,13	4,8	0,8	3
28 B6/Cdt	2,04	4,2	1,3	26
29 B6/Cdt	1,60	3,6	1,4	3
30 B3/Cdt	AMI	AMI	AMI	AMI
31 B3/Cdt	1,77	5,2	13,1	77
32 B3/B2/Cdt	2,01	5,4	4,8	83
33 MU/Pmb	2,67	6,1	6,0	15
34 MU/Pmb	2,14	6,0	6,5	16
35 MU/Bca	2,45	4,8	3,7	4
36 MU/Hg	1,18	3,4	5,0	9
37 MU/Em	1,48	3,2	4,0	10
38 MU/En	2,09	5,4	10,3	5
39 MU/Cdt	2,01	4,1	2,0	24
40 MU/Cdt	2,33	5,3	3,0	87
41 MU/Ba	2,01	4,2	3,7	12
42 MU/Bjsu	1,89	4,4	1,8	18

ANEXO IV – Tabela sorologia para anticorpos anti-OPMV.

Tabela 7. Resultado sorológico para a presença de anticorpo anti-OPMV por espécie, local do serpentário e porcentagem de inibição (P.I).

Local	Serpente	Presença de anticorpos anti-OPMV
Serpentário Intensivo	<i>C. durissus terrificus</i> (n=1) +	Positivo fraco em 1 <i>C. d. terrificus</i> (P.I. = 53%)
	<i>C. durissus terrificus</i> (n=5) -	
	<i>B.alternatus</i> (n=5) -	
	<i>B. jararacussu</i> (n=1) -	
Serpentário Semiextensivo	<i>C. durissus terrificus</i> (n=3) +	Positivo forte em 3 <i>C. d. terrificus</i> (P.I. = 90%, 90% e 94%)
	<i>C. durissus terrificus</i> (n=12) -	
Quarentenários	<i>C. durissus terrificus</i> (n=4) -	Negativos (P.I. < 40%)
	<i>B. moojeni</i> (n=1) -	
Museu de visitação	<i>C. durissus terrificus</i> (n=2) -	Negativos (P.I. < 40%)
	<i>P. molurus bivittatus</i> (n=2) -	
	<i>B. constrictor amarali</i> (n=1) -	
	<i>E. notaeus</i> (n=1) -	
	<i>E. murinus</i> (n=1) -	
	<i>B.alternatus</i> (n=1) -	
	<i>B.jararacussu</i> (n=1) -	
	<i>H.gigas</i> (n=1) -	

P.I. >80% positivo forte; 80-40% positivo fraco; <40% negativo para anticorpos contra OPMV.