RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta Trabalho de conclusão de residência será disponibilizado somente a partir de 21/02/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA, CAMPUS BOTUCATU, SP

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES ANTICOAGULANTES E O POTENCIAL USO EM TRANSFUSÕES SANGUÍNEAS DE JABUTIS-PIRANGA (*Chelonoidis carbonarius*)

MYLENA OLIVEIRA MIRANDA

Botucatu

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA, CAMPUS BOTUCATU, SP

MYLENA OLIVEIRA MIRANDA

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES ANTICOAGULANTES E O POTENCIAL USO EM TRANSFUSÕES SANGUÍNEAS DE JABUTIS-PIRANGA (*Chelonoidis carbonarius*)

Trabalho de Conclusão da Residência em Medicina Veterinária apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP, para obtenção do título de Residente em Medicina Veterinária.

Área de: Animais silvestres

Preceptor: *Profa. Titular* Sheila Canevese Rahal

Botucatu

2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Miranda, Mylena Oliveira.
Diferentes anticoagulantes e o potencial uso em transfusões sanguíneas de jabutis-piranga (Chelonoidis carbonarius)/ Mylena Oliveira Miranda. - Botucatu, 2024.

Trabalho acadêmico (residência - Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Orientador: Sheila Canavese Rahal
Capes: 50500007

1. Hematologia. 2. Anticoagulantes. 3. Transfusão de sangue. 4. Répteis. 5. Jabutis.

MYLENA OLIVEIRA MIRANDA

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES ANTICOAGULANTES E O POTENCIAL USO EM TRANSFUSÕES SANGUÍNEAS DE JABUTIS-PIRANGA (*Chelonoidis carbonarius*)

Trabalho de conclusão de residência apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Botucatu, para obtenção de título de Residente em Animais silvestres.

Área de concentração: Animais silvestres

Data da defesa: 21/02/2025

Banca examinadora:

Profa. Dra. Sheila Canevese Rahal

UNESP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus de Botucatu.

Profa. Dra. Cláudia Valéria Seullner Brandão

UNESP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus de Botucatu.

Dra. Jeana Pereira da Silva

UNESP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus de Botucatu.

AVALIAÇÃO DOS RESIDENTES

ANO: 2025

NOME DO RESIDENTE: Mylena Oliveira Miranda

DEPARTAMENTO: CIRURGIA VETERINÁRIA E REPRODUÇÃO ANIMAL

ÁREA: Animais Silvestres

PRECEPTOR: Prof(a). Dr(a). Carlos Roberto Teixeira

I – AVALIAÇÃO:

Nota das atividades realizadas no período e a entrevista (NA)	10
Nota do trabalho de conclusão (monografia) (NTC)	10
Nota do desempenho durante as atividades de Residência, emitida pelo Preceptor (ND)	10
Média = $\frac{(NA \times 1) + (NTC \times 1) + (ND \times 1)}{3}$	10

Botucatu, 26/02/2025

Prof(a). Dr(a). Sheila Canevese Rahal

Prof(a). Dr(a). Cláudia Valéria Seullner Brandão

Prof(a). Dr(a). Jeana Pereira da Silva

MIRANDA, MYLENA OLIVEIRA. *Avaliação de diferentes anticoagulantes e o potencial uso em transfusões sanguíneas de jabutis-piranga (Chelonoidis carbonarius).* Botucatu, 2024. 21p. Trabalho de Conclusão de Residência em Medicina Veterinária (área de animais silvestres) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

RESUMO

O jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonarius*; Spix,1824) é um testudine terrestre endêmico do Brasil. O número de répteis mantidos como animais de estimação tem aumentado, o que cresce também a demanda de atendimentos veterinários, por essas espécies geralmente apresentarem sinais clínicos muito discretos é necessário associar exames complementares ao exame clínico, como análise hematológica. Devido as diferenças entre os eritrócitos dos répteis em comparação aos mamíferos, também há diferenças no processamento do sangue e a utilização de anticoagulantes. Em relação a transfusão sanguínea, há pouca informação sobre o método mais adequado para sua realização nesses animais. O objetivo do estudo foi avaliar a viabilidade do sangue total de jabuti-piranga em três anticoagulantes, com foco na aplicação para transfusão sanguínea. Para tanto, foram utilizados sete jabutis-piranga hígidos, provenientes do CEMPAS. A colheita de sangue foi realizada mediante contenção química com propofol na veia jugular. Foram colhidos 5 mL de sangue de cada indivíduo e logo em seguida, distribuído em tubos com heparina de sódio, citrato de sódio e CPDA. As amostras foram processadas com intervalos de imediatamente após a colheita, 8, 24, 48 e 72 horas, obtendo-se os parâmetros hematológicos. Os dados foram avaliados estatisticamente. As hemácias, percentual de hematócrito, PT, contagem de leucócitos, heterofilos e azurófilos apresentaram diferenças estatísticas. O citrato e CPDA apresentaram intercorrências como coagulação e intensa hemólise do plasma no decorrer do tempo. A heparina apresentou maior estabilidade em relação ao hematócrito e pouca variação nos valores de PT, leucócitos e azurófilos, além de ser o único anticoagulante que não apresentou hemólise. Essa estabilidade demonstra um melhor desempenho da heparina em relação aos outros anticoagulantes testados.

Palavras-chave: hematologia, répteis, jabuti.

MIRANDA, MYLENA OLIVEIRA. *Evaluation of different anticoagulants and their potential use in blood transfusions of red-footed tortoises (Chelonoidis carbonarius).* Botucatu, 2024. 21p. Trabalho de Conclusão de Residência em Medicina Veterinária (área de animais silvestres) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

ABSTRACT

The red-footed tortoise (*Chelonoidis carbonarius*; Spix,1824) is a terrestrial turtle endemic to Brazil. The number of reptiles kept as pets has increased, which has also increased the demand for veterinary care. As these species generally present very discreet clinical signs, it is necessary to associate complementary tests with the clinical examination, such as hematological analysis. Due to the differences between reptile erythrocytes compared to mammals, there are also differences in blood processing and the use of anticoagulants. Regarding blood transfusion, there is little information about the most appropriate method for performing them in these animals. The aim of this study was to evaluate the viability of whole blood from the red-footed tortoise in three anticoagulants, focusing on its application for blood transfusions. For this purpose, seven healthy red-footed tortoises from CEMPAS were used. Blood collection was performed using chemical restraint with propofol in the jugular vein. 5 mL of blood were collected from each individual and distributed into tubes containing sodium heparin, sodium citrate, and CPDA. The samples were processed at intervals of immediately after collected, 8, 24, 48, and 72 hours to obtain the hematological parameters. The data were statistically evaluated. The red blood cells, hematocrit percentage, PT, white blood cell count, heterophils, and azurophils showed statistical differences. Citrate and CPDA presented complications such as coagulation and intense hemolysis of the plasma over time. Heparin showed greater stability regarding hematocrit with little variation in PT values, white blood cells, and azurophils, and was the only anticoagulant that did not show hemolysis. This stability demonstrates better performance of heparin compared to the other anticoagulants tested.

Key words: hematology, reptile, tortoise.

SUMÁRIO

1- Introdução.....**9**

2- Materiais e métodos.....**11**

3- Resultados **13**

4- Discussão.....**18**

5- Conclusão **20**

6- Referências **21**

1 INTRODUÇÃO

Os répteis são membros da classe Reptilia, composta por quatro ordens diversas, entre as quais a ordem Testudines, constituída pelos cágados, jabutis e tartarugas (LONG, 2016). Mundialmente são reconhecidas 10.700 espécies de répteis, sendo a ordem Testudines a segunda com mais representantes (RHODIN *et al*., 2017). No Brasil ocorrem 37 espécies verificadas de testudines, sendo considerado o terceiro país com maior riqueza de espécies de répteis no mundo (COSTA e BÉRNILS, 2018). Os répteis desempenham papéis importantes nos ecossistemas, tais como predadores, presas, dispersores de sementes, ou como espécies comensais (BÖHM *et al*., 2013). A complexidade desses indivíduos, por serem ectotérmicos e ocuparem diversos nichos ecológicos, provêm uma valiosa visão sobre a saúde da biodiversidade e condição dos microclimas, tornando-os importantes bioindicadores (SCHEELINGS, 2015).

O jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonarius*; Spix,1824) é um testudine terrestre (MENDOZA *et al*., 2023). A espécie é endêmica da América Central e Sul, sendo que no Brasil tem ampla distribuição em florestas e savanas das regiões nordeste, centro-oeste, sudeste e sul (SHIBUYA *et al*., 2021). Esses animais apresentam dieta onívora e variada, incluindo frutas, folhas, flores, fungos e pequenos insetos (LAUTENSCHLAGER *et al*., 2022). A espécie não foi avaliada pela IUCN (*International Union for Conservation of Nature*), o que impossibilita estimar o tamanho da população *in situ* e seu estado de conservação, mas é fato que o número de espécimes tem decaído pela perda de habitat, caça e tráfico (LAUTENSCHLAGER *et al*., 2022; MENDOZA *et al*., 2023). Além dos indivíduos de vida livre, o número de répteis mantidos como animais de estimação não-convencionais tem aumentado, demonstrando crescente demanda de atendimento nas clínicas e hospitais veterinários e, com isso, avanço na medicina de répteis (ANDRADE *et al*., 2012; LONG, 2016).

Na clínica de répteis, em especial dos testudines, a análise hematológica se destaca como um parâmetro crucial para monitorar a saúde do animal, visto que geralmente apresentam sinais clínicos discretos (MURO *et al*., 1998; LÓPEZ-OLVERA *et al*., 2003; GARCIA *et al*., 2021). A colheita do sangue, uso de anticoagulante e armazenamento corretos permitem uma análise mais fidedigna

e, no caso de transfusão sanguínea, é essencial para segurança do doador e do receptor (PERPIÑÁN *et al*., 2010; PHILLIPS *et al.*, 2017).

Os répteis apresentam eritrócitos nucleados, com núcleo elíptico e vida útil mais longa (TROIANO *et al*., 2000; HEATLEY e RUSSEL, 2019). A vida útil de 600-800 dias leva a um maior tempo de regeneração dessas células, podendo ser superior a 60 dias (CITAL e GOODNIGHT, 2016). Entre as espécies de répteis, os testudines apresentam os maiores eritrócitos (HEATLEY e RUSSEL, 2019). Devido as diferenças entre os eritrócitos dos répteis em comparação aos mamíferos, também há diferenças em relação ao processamento do sangue e a utilização de anticoagulantes (CITAL e GOODNIGHT, 2016).

Nos mamíferos o anticoagulante mais utilizado é o EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) (HARR *et al*., 2005). Entretanto, em répteis o uso do EDTA é limitado, em particular nos testudines, visto que em algumas espécies, incluindo jabutis pode causar hemólise (PERPIÑÁN *et al*., 2010; RODRÍGUEZ-ALMONACID *et al*., 2022). Como alternativa, os anticoagulantes heparina e citrato de sódio têm apresentado menores alterações nas análises clínicas do sangue de testudines (MURO *et al*., 1998; PERPIÑÁN *et al*., 2010; PHILLIPS *et al*., 2017; GARCIA *et al*., 2021). O anticoagulante mais utilizado em humanos e pequenos animais para transfusão sanguínea é o CPDA (*Citrate Phosphate Dextrose Adenine*) (NEVAREZ *et al*., 2011). Foi também utilizado em transfusões sanguíneas de *Alligator mississippiensis* e *Terrapene carolina carolina* (MEHALICK *et al*., 2007; NEVAREZ *et al*., 2011; LOUIS *et al*., 2020).

A transfusão sanguínea em répteis é recomendada em casos de anemia severa, com sinais clínicos de descompensação (LOUIS *et al*., 2020). Os motivos mais comuns para indicação dessa terapêutica são: perda aguda de sangue decorrente de trauma, doença crônica severa ou infecciosa levando à anemia, além da estabilização para procedimentos cirúrgicos (CITAL e GOODNIGHT, 2016). Entretanto, ainda há pouca informação sobre o método mais adequado para realização de transfusão sanguínea nesses animais (HEATLEY e RUSSEL, 2019). Por conta da dificuldade para encontrar doadores e de poucos estudos sobre armazenamento do sangue a longo prazo, a transfusão sanguínea em

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, R. S. *et al*. Anatomia ultrassonográfica de fígado, baço e trato urogenital em jiboias. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 55, n. 1, p. 66–73, 2012.

BÖHM, M. *et al*. The conservation status of the world's reptiles. **Biological Conservation**, v. 157, p. 372–385, 2013.

CITAL, S.; GOODNIGHT, A. Reptile and Amphibian Transfusion Medicine. Em: YAGI, K.; HOLOWAYCHUK, M. K. **Manual of Veterinary Transfusion Medicine and Blood Banking**. John Wiley & Sons, Inc, 2016, p. 358–365.

COSTA, H. C.; BÉRNILS, R. S. Répteis do Brasil e suas Unidades Federativas: Lista de espécies. **Herpetologia Brasileira**, v. 7, n. 1, p. 11–57, 2018.

CRAY, C.; RODRIGUEZ, M.; ARHEART, K. L. Use of refractometry for determination of psittacine plasma protein concentration. **Vet Clin Pathol**, v. 37, n. 4, p. 438–442, 2008.

EMERSON, J. A. *et al*. Preservation of Red Blood Cells in the American Alligator (*Alligator mississippiensis*) over Time and in Two Different Anticoagulants. **Journal of Herpetological Medicine and Surgery**, v. 24, n. 3-4, p.82-94, 2014.

FLEMING, G. J. Clinical Technique: Chelonian Shell Repair. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 17, n. 4, p. 246–258, 2008.

GARCIA, G. C. *et al*. Hematologic variables of the Arrau turtle (*Podocnemis expansa*) under the effects of different anticoagulants and cytologic stains. **Vet Clin Pathol.**, v. 50, n. 2, p. 209–215, 2021.

GEORGE, J. W. The Usefulness and Limitations of Hand-held Refractometers in Veterinary Laboratory Medicine: An Historical and Technical Review. **Vet Clin Pathol**, v. 30, n. 4, p. 201–210, 2001.

HARR, K. E.; RASKIN, R. E.; HEARD, D. J. Temporal effects of 3 commonly used anticoagulants on hematologic and biochemical variables in blood samples from macaws and Burmese pythons. **Vet Clin Pathol**, v. 34, n. 4, p. 383–388, 2005.

HEATLEY, J. J.; RUSSELL, K. E. Hematology. Em: STAHL, S. J.; DIVERS, S. J. **Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery**. 3. ed. Elsevier, 2019. p. 301–318.

KOLECKAROVA, M.; KNOTKOVA, Z.; KNOTEK, Z. Influence of blood storage on the haematological values in captive green iguanas (*Iguana iguana*). **Vet Med-Czech.**, v. 67, n. 8, p. 440–446, 2022.

LAUTENSCHLAGER, L.; SOUZA, Y.; GALETTI, M. Frugivory and seed dispersal by the Red-footed Tortoise *Chelonoidis carbonaria*. **Acta Oecologica**, v. 116, p. 1–7, 2022.

LONG, S. Y. Approach to Reptile Emergency Medicine. **Vet Clin Exot Anim.**, v. 19, n. 2, p. 567–590, 2016.

LÓPEZ-OLVERA, J. R. *et al*. Effect of venipuncture site on hematologic and serum biochemical parameters in marginated tortoise (*Testudo marginata*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 39, n. 4, p. 830–836, 2003.

LOUIS, M. M. *et al.* Homologous whole blood transfusion for treatment of severe anemia in five Eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*). **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 35, p. 27–33, 2020.

MEHALICK, M.; LEWBART, G.; CHRISTIAN, L. Multiple blood transfusions in an eastern box turtle (*Terrapene carolina carolina*). **Proceedings Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians**, 2007. Disponível em: <https://cabidigitallibrary.org>.

MENDOZA, P. *et al*. Temperature effects on metabolism and energy requirement during the fast growth phase in the red-footed tortoise, *Chelonoidis carbonaria*. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 193, n. 6, p. 661–676, 2023.

MURO, J. *et al*. Effects of Lithium Heparin and Tripotassium EDTA on Hematologic Values of Hermann's Tortoises (*Testudo hermanni*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 29, n. 1, p. 40–44,1998.

NEVAREZ, J. G. *et al*. Evaluation of an 18-micron filter for use in reptile blood transfusions using blood from American Alligators (*Alligator mississippiensis*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 42, n. 2, p. 236–240, 2011.

PERPIÑÁN, D.; ARMSTRONG, D. L.; DÓREA, F. Effect of anticoagulant and venipuncture site on hematology and serum chemistries of the Spiny Softshell Turtle (*Apalone spinifera*). **Journal of Herpetological Medicine and Surgery**, v. 20, n. 2, p. 1–5, 2010.

PHILLIPS, B. E. *et al*. Evaluation of three anticoagulants used for short-term storage of Loggerhead Sea Turtle (*Caretta caretta*) whole blood. **Journal of Herpetological Medicine and Surgery**, v. 27, n. 3–4, p. 97–103, 2017.

RHODIN, A. G. J. *et al*. Turtles of the world: annotated checklist and atlas of taxonomy, synonymy, distribution, and conservation status (8th Ed.). **Chelonian Research Foundation and Turtle Conservancy**, v. 7, 2017.

RODRÍGUEZ-ALMONACID, C.C. *et al*. Considerations for extracting blood from turtles and tortoises: venipuncture sites and anticoagulants. **MVZ Córdoba**, v. 27, n. 2, p. 2-11, 2022.

SAGGESE, M. D. Clinical Approach to the Anemic Reptile. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 18, n. 2, p. 98–111, 2009.

SCHEELINGS, T. F. Morbidity and mortality of reptiles admitted to the australian wildlife health centre, Healesville Sanctuary, Australia, 2000–13. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 51, n. 3, p. 712–718, 2015.

SHIBUYA, P. S.; TORTATO, M. A.; SANTOS, L. G. R. O. Home-range size and activity of the Red-footed Tortoise, *Chelonoidis carbonarius* (Spix, 1824) in a Brazilian coastal shrub area. **Herpetology Notes**, v. 14, p. 785–789, 2021.

SYKES, J. M.; KLAPHAKE, E. Reptile hematology. **Vet Clin Exot Anim**, v. 18, p. 63-82, 2015.

TROIANO, J. C. *et al*. Osmotic fragility and erythrocyte size in *Iguana iguana* (Sauria-Iguanidae) in captivity. **Comparative Haematology International**, v. 10, p. 14–18, 2000.