



**CENTRO UNIVERSITÁRIO FAMETRO  
MEDICINA VETERINÁRIA**

**RENAN CARLOS DE SOUZA LIMA**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E HEMATOLÓGICA DE ANUROS DE VIDA LIVRE  
COMO FERRAMENTA DE BIOMONITORAMENTO**

**FORTALEZA**

**2022**

RENAN CARLOS DE SOUZA LIMA

AVALIAÇÃO CLÍNICA E HEMATOLÓGICA DE ANUROS DE VIDA LIVRE COMO  
FERRAMENTA DE BIOMONITORAMENTO

Artigo TCC apresentado ao curso de Bacharel em Medicina Veterinária do Centro Universitário Fametro – UNIFAMETRO – como requisito para a obtenção do grau de bacharel, sob a orientação da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Ana Caroline Moura Rodrigues Ciríaco.

FORTALEZA

2022



RENAN CARLOS DE SOUZA LIMA

AVALIAÇÃO CLÍNICA E HEMATOLÓGICA DE ANUROS DE VIDA LIVRE COMO  
FERRAMENTA DE BIOMONITORAMENTO

Artigo TCC apresentada no dia 21 de novembro de 2022 como requisito para a obtenção do grau de bacharel em Medicina Veterinária do Centro Universitário Fametro – UNIFAMETRO – tendo sido aprovado pela banca examinadora composta pelos professores abaixo:

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Ana Caroline Moura Rodrigues Ciríaco  
Orientador – Centro Universitário Fametro

---

Dra. Roberta da Rocha Braga  
Membro - Núcleo Regional de Ofiologia da Universidade Federal do Ceará

---

Prof<sup>º</sup>. Me. Géssica dos Santos Araújo  
Membro - Centro Universitário Fametro

---

Prof<sup>º</sup>. Dra. Bárbara Mara Bandeira Santos  
Membro Suplente - Centro Universitário Fametro

À professora Ana Caroline Moura Rodrigues  
Ciríaco, que com sua dedicação e cuidado de  
mestre e doutora, orientou-me na produção deste  
trabalho.

## AGRADECIMENTOS

À minha família que tornou tudo possível. Se hoje eu consegui me tornar quem eu sou foi devido ao apoio e a confiança dos meus pais, Diana e José Carlos, e a minha tia Marta.

Aos meus professores de graduação que sempre acreditaram no meu potencial e me deram confiança para seguir em frente, em especial às professoras Carol, Bárbara e Luciana que estiverem comigo desde o começo bem de perto e sempre torcendo por mim.

À família NUROF que me recebeu de braços abertos e tornaram meus dias de estágio mais agradáveis. Em especial gostaria de agradecer à Dra Roberta Rocha, por todo apoio, confiança e principalmente por todos os ensinamentos; à Tatiana Feitosa que tornou esses campos de anfíbios possíveis. Sem os olhos de águia de Tati, a inteligência e o compromisso com a pesquisa não teríamos tido sucesso nesse trabalho. Agradeço também a Bruna Kássia que fez parte da minha equipe de campo que também tornou esse trabalho possível a partir de seus esforços. Agradeço à Patrícia Cavalcante que com seu potencial de se tornar a melhor patologista veterinária me ajudou a ler e interpretar cada lâmina de esfregaço sanguíneo. À Inessa Maia e ao Atilas Rodrigues que se mostraram dispostos a ajudar nos campos sempre que precisamos. Vou ser eternamente grato a todos do Nurof por tudo!

À minha parceira de graduação Giovanna Cândido que desde sempre esteve ao meu lado, não só como amiga, mas também como uma irmã. É esse tipo de apoio que faz com que eu acredite que eu posso ganhar o mundo.

À Izabella Barata por sempre aceitar minhas decisões e me fazer acreditar que estão certas e lutar para ser o melhor no que eu quero.

À Danielle Vieira por ser um dos meus pontos de apoio. Olhando para você me inspira a sonhar, ir atrás dos meus sonhos, mas sempre manter os pés no chão.

À Clínica Veterinária Vetlife por ser uma das primeiras clínicas a acreditarem no meu potencial profissional. Agradeço também à Dra Rayssa Sales, Dra Gabriela Schwinden, Dra Luma Morena, Dr Rodrigo Peixoto e Dr Divens Firmino por me treinarem para ser um profissional de qualidade. Se um dia eu for 50% do profissional incrível que vocês são já me sinto realizado. Agradeço também as auxiliares Janaina Damasceno e Luana Keren que me ensinaram como que cuida realmente de um internamento. E a Cleideane Rodrigues que mesmo antes de ter me conhecido pessoalmente, já acreditava em mim e no meu potencial.

Aos meus amigos Vitória Régia, Francislane Santos, Tamires Cavalcante, Jessica Tainara, Débora Lúcia, Markus Vinicius, Adriano Martins, João Gabriel por nunca me deixarem acreditar que não sou capaz de algo e sempre tornarem pequenas vitórias em grandes vitórias. Todas as vezes que vocês estavam vibrando por mim me fizeram sempre querer seguir em frente e continuar dando orgulho para vocês.

Só se pode alcançar um grande êxito quando nos mantemos fiéis a nós mesmos.

Friedrich Nietzsche

# AVALIAÇÃO CLÍNICA E HEMATOLÓGICA DE ANUROS DE VIDA LIVRE COMO FERRAMENTA DE BIOMONITORAMENTO

(*CLINICAL AND HEMATOLOGICAL EVALUATION OF FREE LIFE ANUTS AS A  
BIOMONITORING*)

Renan Carlos De Souza LIMA<sup>1\*</sup>; Ana Caroline Moura Rodrigues CIRÍACO<sup>1</sup>; Roberta da Rocha BRAGA<sup>2</sup>; Géssica dos Santos ARAÚJO<sup>1</sup>; Bárbara Mara Bandeira SANTOS<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Centro Universitário Fametro (UNIFAMETRO), Campus Carneiro da Cunha, Rua Carneiro da Cunha, 180, Jacarecanga, Fortaleza/CE. CEP: 60010-470. <sup>2</sup>Núcleo Regional de Ofiologia da Universidade Federal do Ceará (NUROF UFC). \*Email: renan.lima@aluno.unifametro.edu.br

## RESUMO

Os anuros são espécies amplamente utilizadas para estudos científicos, no entanto até pouco tempo não se tinha muitas informações sobre a medicina desses animais. Somente depois do século XX, a medicina de anfíbios foi impulsionada, após estudos sobre indivíduos com quitridiomycose. São indivíduos supersensíveis que sofrem influência direta dos efeitos sazonais do local onde vivem. O biomonitoramento dessas espécies por avaliações clínicas e hematológicas permite uma avaliação da saúde ambiental. Dessa forma, o objeto do presente trabalho foi realizar avaliações clínicas e hematológicas de anuros de vida livre na ARIE Matinha do Pici na Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza-CE, discutindo possíveis fatores causais ambientais para alterações encontradas. Foram coletados ao todo 32 indivíduos da espécie *Leptodactylus vastus* e *Rhinella diptycha* de vida livre que foram avaliados clinicamente, microchipados e colhido sangue para avaliação laboratorial. Os animais foram mensurados, pesados, sexados e feita a inspeção de pele, cavidade oral, cloaca e avaliação comportamental. Os microchips foram inoculados nos membros posteriores esquerdo. O sangue colhido foi utilizado para mensuração glicêmica e confecção de lâmina de esfregaço sanguíneo. Os resultados permitiram criar uma base para valores de referência de animais que vivem em situações ambientais iguais aos dos indivíduos do estudo. Os anuros avaliados apresentaram vários achados clínicos, que iam desde lesões de pele à perda de dígitos. Na avaliação hematológica foi observado quadro sugestivo de anemia, processos infecciosos e presença de hemoparasitas. A avaliação clínica e hematológica permite um biomonitoramento de anfíbios sendo necessários mais estudos para a criação de valores de referência para as espécies estudadas.

**Palavras-chave:** Anfíbios, *Hepatozoon sp.*, Efeitos Sazonais, Valores Hematológicos, Valores de Referência.

## ABSTRACT

Anurans are species widely used for scientific studies, however until recently there was not much information about the medicine of these animals. Only after the 20th century, amphibian medicine was boosted, after studies on individuals with chytridiomycosis. They are supersensitive individuals who are directly influenced by the seasonal effects of the place where they live. The biomonitoring of these species through clinical and hematological assessments allows an assessment of the environmental health. Thus, the object of the present work was to carry out clinical and hematological evaluations of free-living frogs at ARIE Matinha do Pici at the Federal University of Ceará, in Fortaleza-CE, discussing possible environmental causal factors for the alterations found. A total of 32 free-living individuals of the *Leptodactylus vastus* and *Rhinella diptycha* species were collected, which were clinically evaluated, microchipped and blood collected for laboratory evaluation. The animals were measured, weighed, sexed and the skin, oral cavity, cloaca and behavioral evaluation were inspected. The microchips were inoculated in the left hind limbs. The collected blood was used for blood glucose measurement and preparation of blood smear slides. The results made it possible to create a basis for reference values for animals that live in environmental situations similar to those of the study subjects. The anurans evaluated presented several clinical findings, ranging from skin lesions to loss of digits. In the hematological evaluation, a picture suggestive of anemia, infectious processes and presence of hemoparasites were observed. The clinical and hematological evaluation



allows a biomonitoring of amphibians, being necessary more studies to create reference values for the studied species.

**Key words:** Amphibians, *Hepatozoon sp.*, Seasonal Effects, Hematological Values, Reference Values.

## INTRODUÇÃO

A classe dos anfíbios é composta por aproximadamente 8.178 espécies que ocupam quase todos os lugares do mundo, desde ambientes totalmente aquáticos à ambientes terrestres (BAHL, 2022). Os anfíbios, possuem uma sensibilidade enorme, respondendo rapidamente a qualquer variação ambiental, como temperatura, fotoperíodo e umidade. Outros fatores, como idade, nutrição, estresse e xenobióticos também provocam mudanças fisiológicas rápidas. Esses fatores ambientais são usados como estudo para toxicidade e monitoramento de anfíbios. A Ordem dos anuros possui a maior distribuição entre os anfíbios e são espécies amplamente usadas em experimentos científicos (HARRIS, 1972; JUNIOR *et al.*, 2006).

No final do século XX, foi descoberto a causa da morte de várias espécies de anfíbios por quitridiomycose. Uma doença fúngica causada por um patógeno do gênero *Batrachochytrium*. Esse fato impulsionou o crescimento de pesquisas sobre enfermidades que acometem esses animais. Foi concomitante o crescimento da medicina de anfíbios com a presença de veterinários, microbiologistas e herpetólogos (WRIGHT, 2001; FORZÁN *et al.*, 2017). A atuação do médico veterinário em campo, monitorando as doenças desses indivíduos, fomenta dados diagnósticos indicadores de saúde ambiental. Temos um aumento significativo de anfíbios em cativeiro na última década, sejam para estudos experimentais, como pets ou criação de espécies ameaçadas de extinção, se tornando imprescindível a abordagem clínica para esses animais (GONÇALVES & DOS SANTOS, 2015; FORZÁN *et al.*, 2017).

A avaliação hematológica é uma ferramenta fundamental para monitorar a saúde dos anfíbios expostos a fatores extrínsecos e intrínsecos (HARRIS, 1972; JUNIOR *et al.*, 2006). O sangue dos anfíbios é semelhante ao sangue de aves e répteis, possibilitando um estudo comparativo entre as espécies. O estudo hematológico de anfíbios ainda é escasso devido à grande variação de espécies e a baixa frequência desses animais na clínica veterinária, dificultando a interpretação de conceitos básicos da hematologia. Os fatores sazonais e fatores extrínsecos, como disponibilidade de alimento, idade, sexo etc., alteram os parâmetros hematológicos dos indivíduos, dificultando a criação de valores de referência para as espécies. Cada laboratório precisa de um valor de referência individual, levando em consideração as espécies e os indivíduos que são expostos aos extrínsecos e intrínsecos daquela região (STOCKHAM & SCOTT, 2002; ALLENDER & FRY, 2008).

Apesar do aumento de anfíbios em cativeiro, os estudos sobre a medicina desses animais ainda é algo escasso, dificultando o diagnóstico ou interpretação de achados clínicos. Mais estudos sobre clínica médica e cirúrgica favorecem uma melhor abordagem veterinária

(JUNIOR *et al.*, 2006; GONÇALVES & DOS SANTOS, 2015). Logo, o objetivo do presente trabalho foi realizar avaliações clínicas e hematológicas de anuros de vida livre na ARIE Matinha do Pici na Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza-CE, discutindo possíveis fatores causais ambientais para alterações encontradas e criar uma base para valores de referência de anuros que vivem em condições sazonais semelhantes.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **• Local do estudo, amostragem e período de avaliação**

Ao todo, foram sete campos noturnos para coletar os animais, entre os meses de junho a agosto de 2022. Para o presente estudo foram avaliados 28 espécimes de *Leptodactylus vastus* e 4 de *Rhinella diptycha* de vida livre oriundos da ARIE da Matinha do Pici na Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza-CE. A área utilizada para a pesquisa possui uma grande variedade de animais silvestres vivendo no local. O clima do local é considerado quente e relativamente úmido, com chuvas esporádicas e com presença de corpos d'água. Os animais foram capturados com o uso de puçás e sacos de pano, avaliados, microchipados e em seguida soltos no mesmo local da captura. Ao todo, foram sete campos noturnos para coletar os animais, entre os meses de junho a agosto de 2022. Os primeiros indivíduos microchipados foram mantidos em quarentena no Núcleo Regional de Ofiologia da Universidade Federal do Ceará (NUROF UFC), sob acompanhamento veterinário, para garantir que não houvesse complicações com a implante do microchip, além da observação do estado geral no momento da avaliação clínica. Para microchipagem dos animais, foram utilizados nanochips de dimensão 1,25x7mm implantados no membro posterior direito, seguidos de selagem com metilacrilato.

### **• Avaliação clínica**

A avaliação clínica dos indivíduos capturados a campo foi feita com o auxílio de uma ficha clínica específica para anfíbios, adaptada de Whitaker e Wright (2019). Inicialmente o animal foi identificado, utilizando a sigla Lv para *Leptodactylus vastus* e Rj para *Rhinella diptycha* seguido da numeração por ordem de captura. Em seguida, foi anotado o local, data e horário da captura. Foram mensurados a temperatura e umidade do ambiente, utilizando um termohigrômetro digital; descritos os microhabitats em que os indivíduos eram encontrados e, por último, o sexo e a idade do indivíduo (jovem ou adulto). Para sexagem dos anuros, foram consideradas as características externas de dimorfismo sexual das espécies, sendo elas tamanho corporal, densidade muscular dos membros anteriores, e presença de espinho nupcial em polegar e região peitoral nos machos (VAZ-SILVA *et al.*, 2020).

Todos os indivíduos foram manuseados com luvas de nitrila, para evitar o contato da pele com substâncias irritantes presentes em algumas luvas convencionais (GREER et al., 2009, FORZÁN et al., 2017). Antes do exame físico, foi realizada a biometria, mensurando o CRC (Comprimento Rostro-Cloacal) e a massa corporal, com o auxílio de um paquímetro digital (precisão 0,01cm) e uma balança digital (máximo 5000g precisão 1g), respectivamente. No exame físico (Figura 01), foi avaliado o escore corporal do indivíduo, em “Caquético”, “Magro”, “Normal”, “Sobrepeso” e “Obeso”, o estado geral do animal (“Normal” ou “Debilidado”) e a postura (“Típica” ou “Alterada”). Foi feita a inspeção do tegumento para classificá-lo como “Úmido” ou “Seco” e se apresentava lesões. Além do tegumento, foi inspecionado olhos, tímpanos, cavidade oral e cloaca e registrado os achados na ficha clínica. Foi aferida a temperatura cloacal, com termômetro de sonda metálica (-50 a 300oC precisão 0,1oC) frequência cardíaca, com um doppler fetal 3MHz, e frequência respiratória, através dos movimentos gulares. A contagem dos batimentos cardíacos e movimentos respiratórios foram observados e contados por 2 minutos, para melhor precisão do valor.

Foram avaliados os reflexos proprioceptivos e reflexo de endireitamento sendo classificados como “Normal” ou “Reduzido”. O reflexo de endireitamento é um teste onde o indivíduo é colocado em decúbito dorsal e é cronometrado o tempo que ele retorna à postura normal, a fim de avaliar se animais com alterações clínicas apresentam dificuldade ou demora para voltar à postura normal. A palpação celomática também foi realizada para conferir se havia corpo estranho, desconforto ao toque ou conteúdo alimentar em trato gastrointestinal. Se o animal apresentasse alguma alteração comportamental, também era registrado na ficha clínica.

- **Avaliação laboratorial**

Para a colheita de sangue foi utilizada a técnica de transluminescência com lanterna de led para visualização da veia abdominal. O volume de 0,2 a 1,0ml foi coletado com seringas heparinizadas, para evitar a coagulação. Foram utilizadas preferencialmente agulhas hipodérmicas de 0,70x25mm, para evitar hemólise, durante a venopunção. O material coletado foi utilizado para confecção de lâminas de esfregaço sanguíneo e mensuração de glicemia, através de glicosímetro portátil Accu Check Guide. No esfregaço sanguíneo foi feita a contagem diferencial de leucócitos no aumento de 400x, contando 100 leucócitos e separando a porcentagem de cada leucócito dentro desse número. Também foi feita a densidade de eritrócitos no aumento de 400x, contando todas as hemácias em cinco campos contíguos da monocamada do esfregaço sanguíneo e realizando a média dos valores obtidos (LAPS-UFC,

2021). Aproveitando a leucometria, foi analisado se havia presença de células jovens, lise de células, hemoparasitas ou inclusões virais.

Foram preparadas duas lâminas de esfregaço sanguíneo de cada animal e uma foi corada com panótico rápido e outra com Wright ou Wright/Giemsa para avaliar qual coloração apresentava melhor visualização das células. Foram confeccionadas lâminas de ectoparasitas encontrados nos animais para identificação e citologia de cistos e lesões de pele observados durante o exame físico.

Todos os dados clínicos e laboratoriais foram tabulados e submetidos à estatística descritiva, com cálculos de média, mediana e desvio padrão. O estudo vai permitir criar uma base para valores de referência de anuros que vivem em condições sazonais semelhantes.

- **Aspectos éticos**

O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo SisBio (no. 82318) e CEUA-UFC (protocolo no. 9036080322) para as coletas de animais, procedimentos de manejo e avaliação



**Figura 01:** Avaliação clínica dos anfíbios capturados durante os campos e materiais utilizados para o procedimento.

**Obs.:** A. Colheita sanguínea por veia abdominal ventral em *L. vastus*. B. Aferição de batimentos cardíacos de um *L. vastus* utilizando o doppler fetal. C. Inspeção de cavidade oral de *L. vastus* com o auxílio de uma abre bico. D. Pesagem de um *R. diptycha* que foi levado à quarentena.

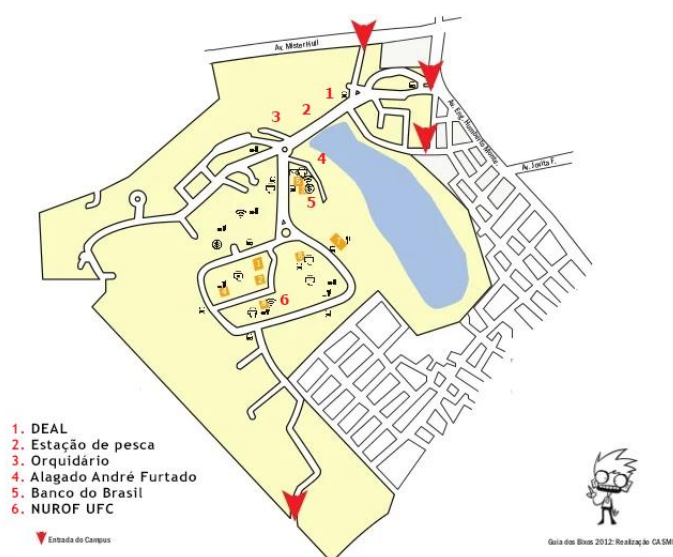
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao todo, foram feitos sete campos noturnos com 32 anuros capturados (Tabela 01), entre os meses de junho a agosto, com duração média de 4h. A equipe de campo foi constituída por quatro membros que exploraram cinco regiões diferentes da AIRE Matinha do Pici (Figura 02). Em cada campo, foram capturados cinco espécimes, no mínimo, examinados e tiveram uma amostra de sangue coletada. O clima do local é considerado quente e relativamente úmido, com chuvas esporádicas. A média térmica registrada foi de 26.7°C com umidade relativa do ar em torno de 72%. Durante as coletas alguns indivíduos jovens foram capturados, não apresentando o dimorfismo sexual bem definido, impossibilitando a sexagem.

**Tabela 01:** Número de *Leptodactylus vastus* e *Rhinella diptycha* coletados em campo na AIRE Matinha do Pici, divididos por espécie e sexo em seus respectivos pontos de coleta.

	N°	<i>Leptodactylus vastus</i>			<i>Rhinella diptycha</i>		
		Macho	Fêmea	Indefinido	Macho	Fêmea	Indefinido
Estação Pesca	9	4	4	-	-	-	1
Orquidário	10	4	3	1	1	1	-
Banco do Brasil	1	-	-	-	-	1	-
Alagado André Furtado	6	-	3	3	-	-	-
DEAL	5	3	2	1	-	-	-
NUROF	1	-	-	1	-	-	-
<b>Total:</b>	<b>32</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>

Fonte: Autoria própria, 2022.



**Figura 02:** Mapa do Campus do Pici - Universidade Federal do Ceará evidenciando os pontos que foram coletados os animais em campo. **Fonte:** Guia dos bixos, 2012 (Adaptado).

Alguns dos primeiros indivíduos coletados foram levados à quarentena do NUROF-UFC, a fim de se observar a permanência do microchip no local correto. Não foram observados sinais inflamatórios, nem clínicos nem à citologia. Nos campos posteriores, alguns indivíduos já avaliados foram capturados novamente e foi possível confirmar com o leitor de microchip. Estes, eram soltos para não repetir os resultados. O microchip além de evitar que o animal seja avaliado novamente para a pesquisa, entra como uma ferramenta fundamental dessas espécies silvestres. Animais com algum sinal clínico importante podem ser capturados novamente, permitindo uma nova avaliação clínica da sua condição (BEATTIE, 2012; SCORTEGAGNA et al., 2017).

Os primeiros passos da avaliação clínica consistiram na mensuração do CRC dos anuros, pesagem, aferição de temperatura cloacal e frequência cardíaca e respiratória. A média de CRC dos indivíduos foi de 127mm, com desvio padrão de 23,64. Obtivemos um desvio padrão considerável, mas esperado já que foram coletados animais de vários tamanhos. Assim como o CRC, o peso desses animais foi bem distinto, com peso médio de 291,50g e desvio padrão de 127,04. A temperatura cloacal entre os anfíbios do estudo foram bem parecidas, com temperatura média de 26.9°C e desvio padrão de 1,29. A frequência média cardíaca foi de 65bpm, com desvio padrão de 16,40. Já a frequência média respiratória foi 96mpm, com desvio padrão de 19,37. Com os parâmetros registrados na avaliação clínica, foi tabelado o mínimo e máximo para cada espécime (Tabela 02). Para o manuseio dos animais, era utilizado luvas de nitrilo por possuírem um papel fundamental na proteção individual de possíveis patógenos com potencial zoonótico encontrados na microbiota dos indivíduos, como a *Salmonella spp.* e *Mycobacterium marinum* (FORZÁN et al., 2017).

**Tabela 02:** Dados clínicos dos indivíduos coletados em campo na AIRE Matinha do Pici, divididos por espécie evidenciando o mínimo e máximo de cada parâmetro.

	<i>Leptodactylus vastus</i>		<i>Rhinella diptycha</i>	
	min	max	min	max
CRC (mm)	62	150	128	155
Peso (g)	25	487	290	560
Temp. Cloacal (°C)	25.3	29.1	25.9	30.5
FC (bpm)	35	108	80	98
FR (mpm)	66	136	42	92

Fonte: Autoria própria, 2022.

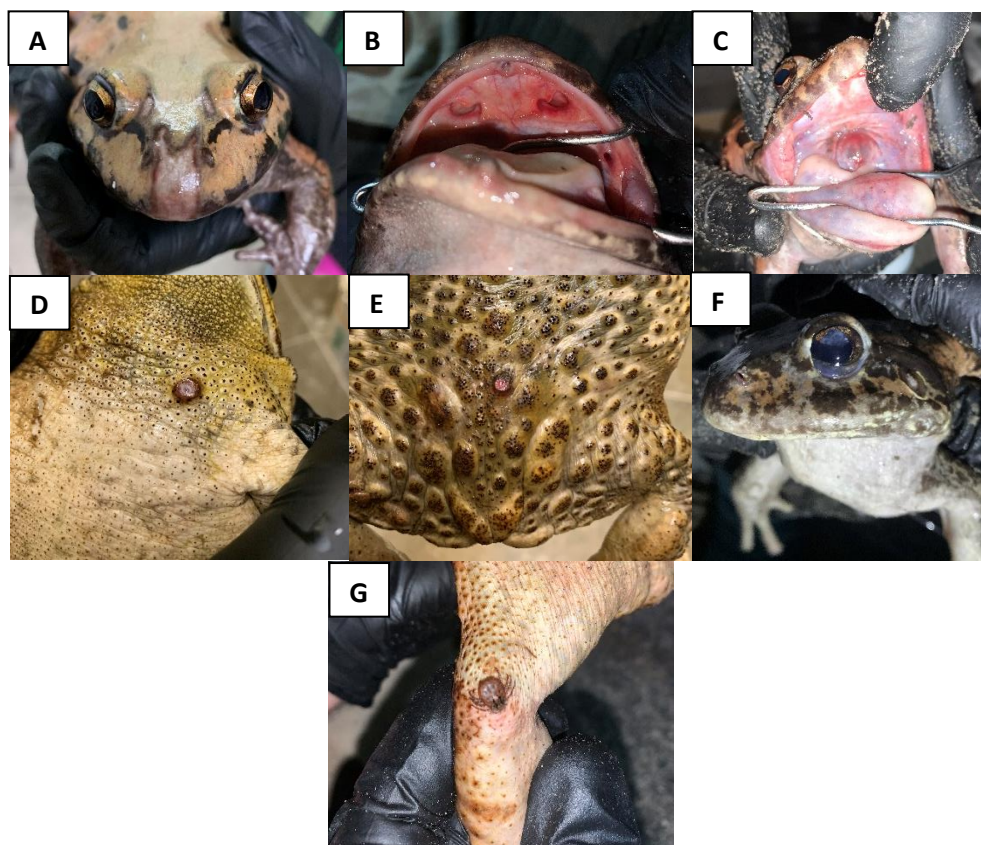
Os efeitos sazonais influenciam diretamente nos parâmetros fisiológicos dos anfíbios. A oferta de alimento, clima, ambientação e outros fatores são determinantes para o desenvolvimento dos indivíduos. Com os dados de 28 *L. vastus*, é possível ter uma base dos parâmetros dessa espécie que vivem em condições semelhante aos indivíduos estudados (JUNIOR et al., 2006; KATZENBERGER et al., 2012; FORZÁN et al., 2017). Em campo, não

foi possível encontrar muitos *R. diptycha* impossibilitando mais informações clínicas sobre a espécie.

Durante o exame físico foi possível observar que 80% dos animais coletados apresentaram alterações clínicas. Na inspeção de tegumento observamos formações de nódulos puntiformes multifocais, despigmentação, lesões de pele, área de cicatrização e de eritema, lesões ulceradas e carrapatos do gênero *Amblyomma sp.* Sem o histórico do animal, o diagnóstico das afecções encontradas necessitaria de exames complementares. Lesões nodulares, área de eritema e despigmentação da pele podem ser indicativos de doenças fúngicas, bacterianas ou protozoárias. Para um diagnóstico preciso, pode ser utilizada para orientar o clínico, a microscopia, PCR (Reação em cadeia da polimerase), culturas fúngicas e bacterianas. Áreas de eritema e lesões ulcerativa em anuros geralmente estão associadas à infecção bacteriana, mas é necessário um diagnóstico diferencial, pelo fato de poder estar associadas também a micoses ou agentes tóxicos do ambiente (DENSMORE & GREEN, 2007; FORZÁN *et al.*, 2017). Os artrópodes são uma grande ameaça à saúde dos animais por possuírem várias especificações de hospedeiros. O gênero *Amblyomma sp.* é um carrapato comumente observado nos anuros brasileiros. Além de ser um ectoparasita de animais em geral, estudos mostram que uma grande quantidade de *Amblyomma sp.* está infectada com *Rickettsia bellii*, intensificando o risco para hospedeiro (FACCINI & LUZ, 2013; HORTA *et al.*, 2015).

No exame clínico, foi possível observar alterações oftálmicas, produção de conteúdo espumoso em orofaringe, petéquias e úlceras orais, orofaringe edemaciada e eritematosa, eritema emcoanas, apatia e ausência de alguns dígitos (Figura 03). O diagnóstico de afecções oftálmicas em anfíbios é bastante difícil devido à escassa literatura sobre o assunto. Os anfíbios possuem a capacidade de regeneração da retina por conta de células tronco regenerativas presentes na margem ciliar, então acredita-se que os problemas oftálmicos desses animais se autocorrigem (PEREIRA *et al.*, 2020; BASTOS *et al.*, 2022). Deve-se pensar em um diagnóstico diferencial para ranavírus, pois também é comum ver animais infectados com apatia e lesões orais, além de lesões gastrointestinais. A região de orofaringe de um dos indivíduos estava com sinais de inflamação, o que pode ser resultado de uma esofagite causada por ranavírus. Sem o histórico do animal, é impossível saber a causa da perda dos dígitos vistos em alguns indivíduos, Perdas de membros geralmente acontecem em brigas ou predação (DENSMORE & GREEN, 2007; WHITAKER & WRIGHT, 2019; CIRIMBELLI *et al.*, 2019).





**Figura 03:** Achados do exame físico feito nos indivíduos capturados.

**Obs.:** A. Úlcera cutânea em região do plano rostral em *L. vastus*. B. Região de nasofaringe mostrando coanas eritematosas em um *L. vastus*. C. Região de Orofaringe de um *L. vastus* com eritema. D. Nódulo focal ulcerado em região de peitoral em um *R. diptycha*. E. Nódulo focal ulcerado em região dorsal-caudal de um *R. diptycha*. F. Foco enevoadado dentro do globo ocular em um *L. vastus*. G. Presença de um carrapato de sapo (*Amblyomma sp.*) no membro posterior direito de um *R. diptycha*.

Com o sangue colhido dos indivíduos, foi aferida a glicemia, porém não foram encontrados valores de referência para as espécies *L. vastus* e *R. diptycha* (Tabela 03). Foram comparados os valores de glicemia entre indivíduos com e sem conteúdo no trato alimentar à palpação. Nos *R. diptycha*, todos os animais capturados não apresentaram conteúdo alimentar na palpação celomática. Já nos *L. vastus*, foi separado o resultado da glicemia de 11 indivíduos que apresentavam conteúdo alimentar dos 17 indivíduos que não apresentavam. O valor glicêmico médio do *L. vastus* que tinham conteúdo alimentar foi 52mg/dL, com desvio padrão de 20,06, e valor médio glicêmico dos que não tinham conteúdo alimentar foi de 37mg/dL, com desvio padrão de 15,15.

**Tabela 03:** Níveis glicêmicos mínimos e máximos dos anuros capturados na ARIE Matinha do PICI evidenciando a glicose (mg/dL) dos indivíduos com e sem conteúdo alimentar na palpação.

<i>Leptodactylus vastus</i>		<i>Rhinella diptycha</i>	
Com conteúdo alimentar	Sem conteúdo alimentar	Com conteúdo alimentar	Sem conteúdo alimentar

min	max	min	max	min	max	min	max
34	89	18	73	-	-	35	41

Fonte: Autoria própria, 2022.

Foi feita a leitura dos esfregaços sanguíneos confeccionados para avaliar densidade de eritrócitos e contagem diferencial de leucócitos (Tabela 04). Na leitura das lâminas, foi observado muitos indivíduos com eritroblastos no sangue periférico, hemácias jovens em processo de mitose e presença de *Hepatozoon sp.* tanto dentro das hemácias, quanto na forma de merozoíto vagando no meio extracelular (Figura 04). Também foi observado linfócitos e trombócitos reativos, microcitose de leucócitos, indícios de panleucopenia e leucopenia, presença de conteúdo fagocitado em eosinófilos e monócitos, lise de hemácias e leucócitos, neutrófilos e monócitos com núcleo descondensado, eritrócitos em anisocitose (Figura 05).

**Tabela 04:** Densidade de eritrócitos e contagem diferencial dos anuros capturados na ARIE Matinha do PICI.

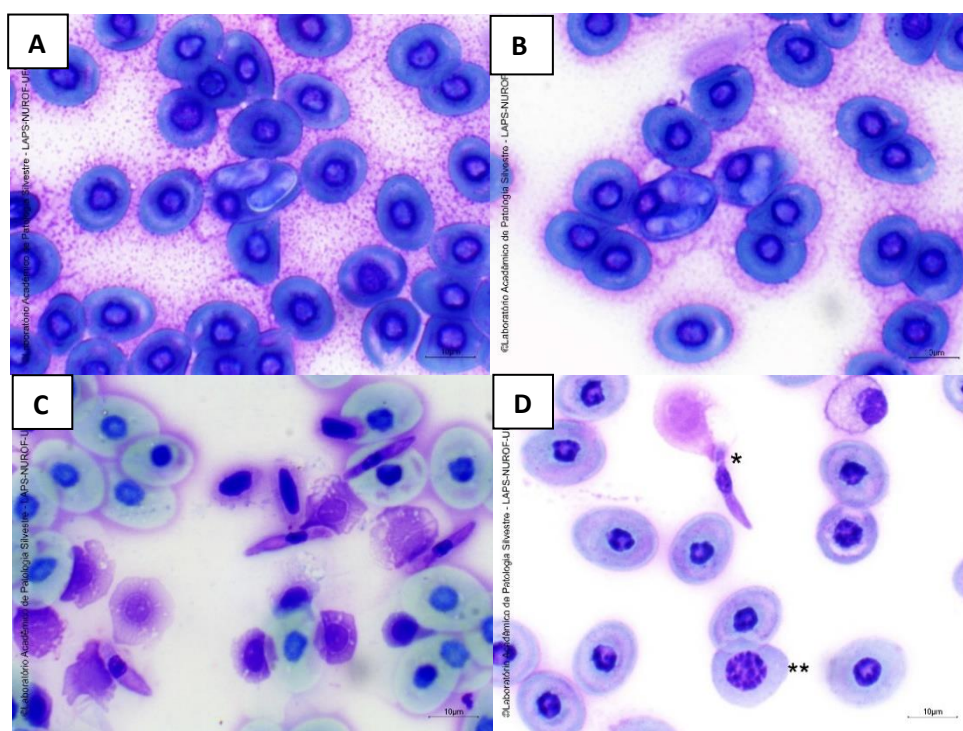
	<i>Leptodactylus vastus</i>		<i>Rhinella diptycha</i>	
	min	max	min	max
Densidade de eritrócitos (x10 <sup>4</sup> )	88,4	506,8	60,6	369
Neutrófilos (%)	1	14	4	28
Linfócitos (%)	8	86	20	61
Basófilos (%)	0	2	0	2
Eosinófilos (%)	9	85	27	64
Monocitos (%)	0	27	2	9

Fonte: Autoria própria, 2022.

Sem valores de referência para as espécies é difícil estabelecer o que seria fisiológico para eles. Stockham & Scott (2002), mencionam que para criar valores hematológicos para uma espécie é necessário coletar dados, de no mínimo, 60 indivíduos saudáveis. Também menciona que para anfíbios não se deve extrapolar um valor de referência de uma espécie para outra. Entretanto, a pesquisa permite ter uma base do que seriam os valores de referência para essas espécies de anfíbios que vivem nas condições ambientais de onde foram capturados. Algumas lâminas de esfregaço sanguíneo apresentavam poucas hemácias por campo estava bem reduzido. Os indivíduos que se encontravam nessas condições apresentavam muitos eritroblastos no sangue periférico ou presença de *Hepatozoon sp.* A maturação e mitose dos eritrócitos de anfíbios no sangue periférico podem ser induzidas por fatores sazonais, anemias, baixa oxigenação, lise das hemácias ou parasitas intracelulares, como o *Hepatozoon sp.*

(DAWSON, 1930; BOUHAFS *et al.*, 2009; AKULENKO, 2012; GONZÁLEZ-MILLE *et al.*, 2019; GONZÁLEZ *et al.*, 2019).

Mais de 40 espécies de *Hepatozoon sp.* já foram registradas em anfíbios no mundo e a infecção ocorre após os indivíduos se alimentarem dos mosquitos, do gênero *Culex*, infectados pelos oócitos maduros do parasito. Esses oócitos maduros se instalam no fígado dos anfíbios e se desenvolvem assexuadamente até que migram para os eritrócitos. Os gamontes infecciosos presentes nos eritrócitos são ingeridos por mosquitos hematófagos ao se alimentarem do sangue desses animais infectados e se instalam nos túbulos de Malpighi até maturarem os oócitos (SMITH, 1996; SHUTLER *et al.*, 2009). Os hemoparasitas geralmente são achados comuns em répteis e anfíbios, porém, quando encontrados em uma grande quantidade, podem debilitar o animal. Com as hemólises causadas pelos vários parasitas circulantes no sangue, o animal tende a entrar em um quadro anêmico (GONZÁLEZ *et al.*, 2019; COELHO, 2020). A infecção por hemoparasitos e a anisocitose observada sugere possível anemia regenerativa.

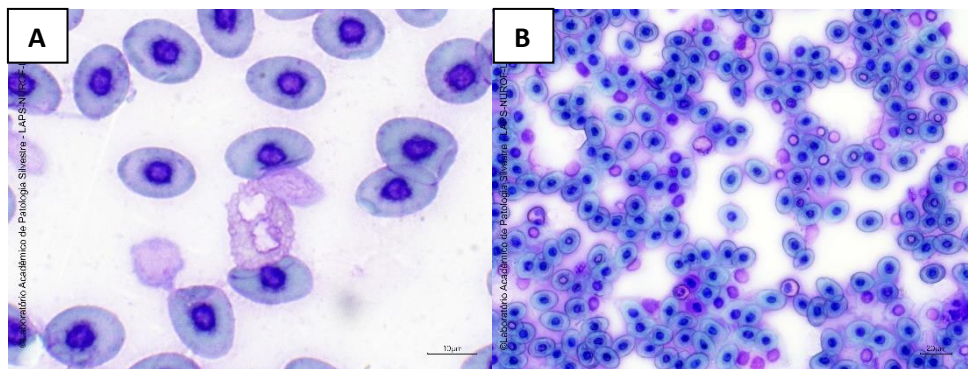


**Figura 04:** Presença de *Hepatozoon sp.* no sangue de *L. vastus*. Esfregaço sanguíneo corado em panóptico rápido. Aumento: 1000x. **Fonte:** Imagens cedidas pelo Laboratório Acadêmico de Patologia Silvestre. LAPS-Nurof UFC, 2022.

**Obs.:** A e B. *Hepatozoon sp.* Múltiplos gamontes intraeritrocitários com aumento de volume e deslocamento do núcleo para a periferia (células hipercoreadas e depósito de corante ao fundo). C. *Hepatozoon sp.* múltiplos estágios extraeritrocitários (forma de merozoítos) e debris de hemácias rompidas ao fundo. D. *Hepatozoon sp.* - estágio extraeritrocitário (\*) e hemácia recém-rompida. Eritroblasto (\*\*).

Os glóbulos brancos predominantes nos indivíduos avaliados foram os linfócitos e eosinófilos (Tabela 04). As proporções de leucócitos permitem medir a função imunológica nos animais. Os linfócitos em alguns anfíbios são os leucócitos mais predominantes, sem valor de referência para *Leptodactylus vastus* e *Rhinella diptycha*, permite estipular que para esses animais, os linfócitos também são os mais predominantes. Mas não se pode descartar contaminação por linfa ou linfocitose. Já os eosinófilos são células citotóxicas que possuem a função de estimular outros leucócitos a debelarem parasitas. E o aumento dessas células nos indivíduos pode estar relacionada a infecção por Hepatozoon sp e os carrapatos encontrados nos *R. diptycha* (EDWARDS, 1994; ALLENDER & FRY, 2008; SHUTLER et al., 2009).

Os linfócitos e trombócitos reativos são sugestivos de atividade das células em resposta a algum patógeno circulante. Os indivíduos do estudo possuem sinais clínicos sugestivos de micobacteriose, quitridiomiose, ranavirus que pode induzir a atividade dessas células (GARCIA-NAVARRO, 2005; DENSMORE & GREEN, 2007). A panleucopenia e a leucopenia nos indivíduos podem ter sido desencadeadas por algum processo infeccioso que interferiu na produção glóbulos brancos pela medula (KURTZMAN et al., 1989; BREUER et al., 1998).



**Figura 05:** Esfregaço sanguíneo de *L. vastus* evidenciando as alterações celulares em eritrócitos e eosinófilos. **Fonte:** Imagens cedidas pelo Laboratório Acadêmico de Patologia Silvestre. LAPS-Nurof UFC, 2022.

**Obs.:** A. Eosinófilo com vacúolos fagocitários no citoplasma. Panótico, 1000x. B. Predominância de hemácias maduras. Eventuais hemácias com núcleo de cromatina periférica. Anisocitose e pleomorfismo nuclear leve de eosinófilos. Trombócitos ativados (gigantes). Panótico, 400x.

## CONCLUSÕES

O presente estudo conclui que a avaliação clínica e os exames hematológicos são ferramentas fundamentais para o biomonitoramento de anfíbios de vida livre. Permitindo avaliar a condição clínica dos animais que residem na região do estudo sob influência sazonal do local. Ressalta-se a demanda por mais estudos nesta área de pesquisa, a fim de conseguir um

número maior de indivíduos para criar valores de referência para *Leptodactylus vastus* e *Rhinella diptycha* que residem em condições sazonais iguais.

## REFERÊNCIAS

- WHITAKER, B. R.; WRIGHT, K. M. Amphibian Medicine. In: DIVERS, S. J.; STAHL, S. J. **Mader's reptile and amphibian medicine and surgery-e-book**. Elsevier Health Sciences, p. 992-1013. 2019.
- VAZ-SILVA, W., MACIEL, N. M., NOMURA, F., MORAIS, A. R., BATISTA, V. G., SANTOS, D. L., ANDRADE, S. P., OLIVEIRA, A. Â. B., BRANDÃO, R. A., BASTOS, R. P. Guia de identificação das espécies de anfíbios (Anura e Gymnophiona) do estado de Goiás e do Distrito Federal, Brasil Central [online]. Curitiba: **Sociedade Brasileira de Zoologia**, 2020.
- MARTINS, A. C. **Influência de tratamentos alternativos no bem-estar e na saúde de serpentes cativas**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal do Ceará. 2022.
- HARRIS, J. A. Seasonal variations in some hematological characteristics of *Rana pipens*. *Comp. Biochem. Physiol*, Oxford, v. 43, p. 975-989. 1972
- JUNIOR, J. F.; DE STÉFANI, M. V.; MARTINS, M; L. Parâmetros hematológicos de rã-touro, *Rana catesbeiana*, alimentada com diferentes rações comerciais. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 32, n. 2, p. 173-181, 2006.
- BAHL, M. F. **Desarrollo de herramientas de diagnóstico clínico en anfibios anuros para su utilización como indicadores de calidad ambiental**. Tese de Doutorado. Universidad Nacional de La Plata. 2022.
- FORZÁN, M. J.; HEATLEY, J.; RUSSELL, K. E. Barbara Horney Clinical pathology of amphibians: a review. *Veterinary clinical pathology*, v. 46, n. 1, p. 11-33, 2017.
- GONÇALVES, G. A. M.; DOS SANTOS, O. U. Cirurgia reconstrutiva em rã-manteiga (*Leptodactylus latrans* - steffen, 1815) – Relato de caso. **Revista De Ciência Veterinária E Saúde Pública**, v. 2, n. 1, p. 71-75, 2015.
- WRIGHT, K. M. Evolution of the amphibia. In: WRIGHT, K. M. & WHITAKER, B. R. **Amphibian medicine and captive husbandry**. Krieger Publishing Company, p. 1. 2001.
- GREER, A. L.; SCHOCK, D. M.; BRUNNER, J. L.; JOHNSON, R. A.; PICCO, A. M.; CASHINS, S. D.; ALFORD, R. A.; SKERRATT, L. F.; COLLINS, J. P. Guidelines for the safe use of disposable gloves with amphibian larvae in light of pathogens and possible toxic effects. **Herpetological Review**, v. 40, p. 145-147, 2009.
- STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. Fundamentals of veterinary clinical pathology. Ames (IA): **Iowa State Press**; p. 11. 2002.
- CIRIMBELLI, C. F.; ERCOLIN, A. C. M.; PIRES, S. T.; SETIN, R. A.; BRESSAN, T. F.; SILVA, A. N. E.; CARREGARO, A. B.; HAGE, M. C. F. N. S. Acompanhamento radiográfico de fraturas em sapo cururu (*Rhinella marina*). **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 17, n. 1, p. 53-54, 2019.
- ALLENDER, M. C.; FRY, M. M. Amphibian Hematology. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 11(3), p. 463–480. 2008.

SCORTEGAGNA, G; M.; RIBEIRO, K. P.; ALBINO, K. C.; DE JESUS, S; R.; ARRUDA, A. A. A importância do conhecimento da microchipagem para o bem estar social e animal. **Revista GepesVida**, v. 3, n. 6, 2017.

BEATTIE, K. L. Emerging Technologies for Environmental Biomonitoring. **Biotechnology in the Sustainable Environment**, v. 54, p. 249, 2012.

KATZENBERGER, M.; TEJEDO, M.; DUARTE, H.; MARANGONI, F.; BELTRÁN, J. F. Tolerância e sensibilidade térmica em anfíbios. **Revista da Biologia**, v. 8, p. 25-32, 2012.

DENSMORE, C. L.; GREEN, D. E. Diseases of amphibians. **ILAR journal**, v. 48, n. 3, p. 235-254, 2007.

FACCINI, J. L. H.; LUZ, H. R. Parasitismo por carrapatos em Anuros no Brasil. **Revisão. Veterinária e Zootecnia**, v. 20, p. 100-111, 2013.

HORTA, M. C., SARAIVA, D. G., OLIVEIRA, G. M. B., MARTINS, T. F., & LABRUNA, M. B. *Rickettsia bellii* in *Amblyomma rotundatum* ticks parasitizing *Rhinella jimi* from northeastern Brazil. **Microbes and Infection**, v. 17(11-12), p. 856–858. 2015.

Pereira, A. G., Costa, G. B., Carvalho, L. L., Costa, M. L., Paulino Júnior, D. P., & Magalhães, L. F. Uso de modelos não mamíferos em pesquisa na área de oftalmologia. **PUBVET**, v. 14(8), p. 1–6. 2020.

BASTOS, B. C.; SOARES, D. O.; SILVA, J. O.; ALBANO, M. E. S. P.; GALDINO, A. L. N.; LIMA, G. B. S.; BERGER, L. G. F.; CARVALHO, L. A.; PACHECO, A. D.; SOUZA, S. F. Semiologia oftálmica veterinária: Revisão. **PUBVET**, v. 16, p. 207, 2022.

## GLOSSÁRIO

**SisBio:** Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

**CEUA-UFC:** Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará

**bpm:** batimentos por minuto

**mpm:** movimentos por minuto



## ANEXO – Ficha clínica de anfíbios

### FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICA – ANFÍBIOS (2022)

Id: \_\_\_\_\_ Espécie: \_\_\_\_\_ Procedência: \_\_\_\_\_ Data/Hora coleta: \_\_\_\_\_  
Sexo: \_\_\_\_\_ CRC: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_ Faixa etária: \_\_\_\_\_  
Localização: \_\_\_\_\_ Microhabitat \_\_\_\_\_  
Macrohabitat \_\_\_\_\_ Temperatura \_\_\_\_\_ Umidade \_\_\_\_\_

### CHECKLIST POR ÓRGÃO / SISTEMA

Escore corporal  Caquético  Magro  Normal  Sobrepeso  Obeso  
Estado geral  Normal  Debilitado  
Postura  Típica  Alterada \_\_\_\_\_  
Tegumento  Úmido  Seco  Lesões \_\_\_\_\_  
Temp cloacal \_\_\_\_\_ FC \_\_\_\_\_ FR \_\_\_\_\_  
Olhos (globo, córnea, pálpebra, reflexos, eritema, outros) \_\_\_\_\_  
Tímpano (integridade, outros) \_\_\_\_\_  
Cavidade oral (mucosa, língua, orofaringe) \_\_\_\_\_  
Cloaca (secreção, restos de excreta, prolapso, outros) \_\_\_\_\_  
Reflexos proprioceptivo  normal  reduzido \_\_\_\_\_  
Reflexo de endireitamento  normal  reduzido \_\_\_\_\_  
Palpação celomática (edema abd, edema membros, volume estomacal, volume bexiga) \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\*NDN – Nada digno de nota / ALT – Alterado / NE – Não examinado / NA – Não se aplica

### Observações

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

(Adaptado de Whitaker e Wright, 2019 IN: DIVERS, S.J.; STAHL, S.J. Mader's Reptile and amphibian medicine, Cap.89).