



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
ESPECIALIZAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS VETERINÁRIAS

**Determinação do Perfil Bioquímico de Tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*)
juvenis selvagens no Litoral Sul do Brasil**

ALICE TEIXEIRA MEIRELLES LEITE

PORTO ALEGRE

2007

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
ESPECIALIZAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS VETERINÁRIAS**

Determinação do Perfil Bioquímico de Tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) juvenis selvagens no Litoral Sul do Brasil

Autor: Alice Teixeira Meirelles Leite

Orientador: Méd. Vet. MSc. Simone T. de Oliveira

Co-orientador: Prof. Dr. Elton Pinto Colares

Monografia apresentada à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Especialista em Análises Clínicas Veterinárias.

PORTO ALEGRE

2007

Alice Teixeira Meirelles Leite

DETERMINAÇÃO DO PERFIL BIOQUÍMICO DE TARTARUGAS-VERDES (*Chelonia mydas*) JUVENIS SELVAGENS NO LITORAL SUL DO BRASIL

Aprovada em 10 de novembro de 2007

APROVADO POR:

Méd. Vet. MSc. Simone Tostes de Oliveira
Orientadora

Prof. Dr. Félix H. Díaz González
Membro da Banca de Avaliação

Méd. Vet. MSc. Luciana de Almeida Lacerda
Membro da Banca de Avaliação

AGRADECIMENTOS

Ninguém faz nada sozinho. Por isto, tenho tudo a agradecer a muita gente...

Minha família (Norberto, Ivone, Dani, Paulo, Cíntia, Paulinha, Luke, Margot, Olivier, Cruella, Sau e Feia), por todo carinho e apoio, por acreditarem. Minha família e amigos de Rio Grande (Robeltinho e Martha, Antonia e Jéssica, Pieter e Gabi), que cuidam tão bem de mim.

Minha orientadora, Méd. Vet. MSc. Simone Tostes de Oliveira, e meu co-orientador, Prof. Dr. Elton Pinto Colares (Departamento de Ciências Fisiológicas - FURG), que com paciência e otimismo guiaram este trabalho.

Professores e colegas do Curso de Especialização em Análises Clínicas Veterinárias – LACVET, pelo convívio e conhecimento compartilhado.

Silvia e Renata, presença constante, apoio moral e técnico, amizade de tantos anos.

A equipe do Museu Oceanográfico “Prof. Eliézer de C. Rios”, pela amizade e pelas oportunidades de crescimento profissional.

RESUMO

O perfil bioquímico do sangue é uma ferramenta muito importante no processo de reabilitação das tartarugas marinhas, uma vez que aumenta a eficiência do diagnóstico e do tratamento de animais enfermos. A tartaruga-verde, *Chelonia mydas*, é uma das espécies que ocorrem ao longo do litoral do Rio Grande do Sul. Este trabalho tem por objetivo traçar um perfil bioquímico do soro de tartarugas-verdes juvenis resgatadas de dois modos: o grupo “rede” (n=12) corresponde a animais controle e o grupo “praia” (n= 21) é composto por animais supostamente enfermos. Os indicadores selecionados para análise foram ALT, AST, ALP, CK, creatinina, uréia, ácido úrico, proteínas totais, albumina, globulinas, glicose, triglicerídeos, fósforo, cloretos, sódio, potássio e cálcio. Os indivíduos foram submetidos à biometria, para a determinação da massa corporal, em gramas, e comprimento curvilíneo da carapaça (CCC), em centímetros. Estas medidas são utilizadas no cálculo de um índice para determinar a condição corporal dos animais, através da razão entre o CCC e a massa. A seguir, amostras de sangue foram coletadas do seio cervical dorsal e transferidas para tubos estéreis sem anticoagulante. Os tubos foram centrifugados para obtenção do soro, armazenado a -20° C até o momento da realização das análises. As médias de ácido úrico, uréia, creatinina, cloretos e índice corporal foram estatisticamente superiores no grupo “praia”, enquanto que as médias de ALT, ALP e CK foram maiores no grupo “rede”. O perfil dos analitos alterados indica que os indivíduos encontrados na praia estão certamente desidratados e sugere os primeiros estágios de um quadro de falência renal. Por outro lado, as tartarugas capturadas em rede apresentaram maior massa corporal e encontravam-se mais ativas. Ácido úrico, creatinina e uréia são os parâmetros mais promissores para auxiliar no diagnóstico de doenças que acometem os animais encalhados na praia. O resultado deste estudo, apesar do pequeno número de indivíduos, contribui para aumentar a informação sobre os perfis bioquímicos de tartarugas-verdes juvenis selvagens, aprimorando as rotinas de reabilitação e aumentando a sobrevivência destes animais.

Palavras-chave: tartaruga-verde, *Chelonia mydas*, perfil bioquímico.

ABSTRACT

*Biochemical profile represents a very important tool for rehabilitation of sea turtles, for increasing diagnostic and treatment efficiency of sick animals. Green turtle, *Chelonia mydas*, is one of the species found along Rio Grande do Sul coast. The aim of this study is to outline a biochemical profile in serum of immature green turtles rescued in two ways: group “net” (n=12) corresponding to control, and group “beach” (n=21) composed by hypothetical ill turtles. The analytes selected for analysis were ALT, AST, ALP, CK, creatinine, urea, uric acid, total protein, albumin, globulin, glucose, triglycerides, phosphorus, chlorine, sodium, potassium and calcium. The measurement of weigh (g), and curved carapace length (cm), was used to calculate an index to assess the body condition of the individuals, through the quotient between CCL and mass. Blood samples were collected from the dorsal cervical sinus and transferred to sterile vials without anticoagulant. The vials were centrifuged to separate serum, which was kept to -20° C until tested. Acid uric, urea, creatinine, chlorine and body condition index were statistically upper in group “beach”, while ALT, ALP and CK means were higher in group “net”. The changed analytes show that individuals found in the coast are certainly dehydrated and suggest the first steps of renal failure. In the other hand, turtles captured in trawl nets demonstrated upper body mass and more activity. Uric acid, creatinine and urea seemed to be the best parameters to help identify diseases of stranded turtles. Despite of small number of individuals, the results of this study aids to increase information about biochemical profiles of wild juvenile sea turtles, improving rehabilitation protocols and raising its surviving rates.*

*Key-words: green turtle, *Chelonia mydas*, biochemical profile.*

SUMÁRIO

| | |
|----------------------------------------------------------|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO GERAL | 8 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 9 |
| <i>a. Ecologia e Fisiologia da Tartaruga-verde</i> | <i>9</i> |
| <i>b. Indicadores Bioquímicos.....</i> | <i>11</i> |
| 3. OBJETIVOS | 15 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS | 16 |
| <i>a. Animais.....</i> | <i>16</i> |
| <i>b. Amostras.....</i> | <i>16</i> |
| <i>c. Análises bioquímicas no soro:</i> | <i>17</i> |
| <i>d. Análise Estatística:</i> | <i>17</i> |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 18 |
| 6. CONCLUSÃO E COMENTÁRIOS | 22 |
| REFERÊNCIAS..... | 23 |

1. Introdução Geral

Na medicina veterinária moderna a disponibilidade de testes laboratoriais é tão relevante para o clínico quanto o histórico e o exame clínico do paciente, em função de que esses podem fornecer evidências de alterações fisiológicas resultantes das enfermidades (COLES, 1986). Os perfis bioquímicos fornecem informações importantes em relação ao estado clínico e metabólico do indivíduo, servem como indicador no metabolismo energético, protéico e mineral, e oferecem subsídios na interpretação do funcionamento hepático, renal, pancreático, ósseo e muscular, podendo ser utilizados em veterinária para a avaliação clínica individual (GONZÁLEZ, SILVA, 2006).

A bioquímica clínica de répteis ainda não alcançou o estágio verificado em medicina de animais domésticos, pois ainda há poucas pesquisas controladas a respeito do significado das alterações verificadas neste grupo (CAMPBELL, 2007).

O perfil bioquímico do sangue é uma ferramenta muito importante no processo de reabilitação das tartarugas marinhas, uma vez que aumenta a eficiência do diagnóstico e do tratamento de animais enfermos (WALSH, 1999). Existem poucas informações sobre os valores bioquímicos da tartaruga-verde, sendo de grande importância esta determinação.

A tartaruga-verde, *Chelonia mydas*, é uma das espécies de tartarugas marinhas que ocorrem ao longo do litoral do Rio Grande do Sul (BUGONI et al., 2001). Através do esforço conjunto de várias entidades, os indivíduos debilitados ou feridos, recolhidos no litoral sul, são encaminhados ao Centro de Recuperação de Animais Marinhos (CRAM), anexo ao Museu Oceanográfico “Prof. Eliézer de C. Rios” - FURG, cujo objetivo é recuperar e devolver ao ambiente natural exemplares da fauna marinha encontrados enfermos e debilitados ao longo do litoral sul do Rio Grande do Sul.

Nesta população os principais quadros clínicos registrados nos indivíduos oriundos de encalhes de praia são desidratação, debilidade, lesões cutâneas e alterações na flutuabilidade, enquanto que sinais de coma por anoxia estão mais relacionados à captura incidental em redes de pesca. Os sinais clínicos de desidratação mais facilmente observados são enoftalmia, perda da elasticidade cutânea e depressão. Os casos de debilidade são evidenciados por diversos graus de emaciação, alto índice corporal e eventual presença de organismos aderidos às superfícies externas do corpo, denominados epibiontes. Por outro lado, as tartarugas vítimas de capturas incidentais em redes de pesca freqüentemente encontram-se em bom estado corporal (MEIRELLES LEITE, SILVA FILHO, 2007).

Este trabalho tem por objetivo traçar um perfil bioquímico do soro de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) em recuperação através de técnicas bioquímicas utilizadas rotineiramente, com vistas a melhorar os protocolos de reabilitação destes animais.

2. Revisão Bibliográfica

a. Ecologia e Fisiologia da Tartaruga-verde

As tartarugas-verdes (Fig 1.), *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), são répteis marinhos da família Cheloniidae, altamente migratórios, de vida longa e maturação sexual tardia (TAMAR, 2005).



Figura 1: Tartaruga-verde (*Chelonia mydas*).
Fonte: Acervo CRAM.

Ocorrem nos mares tropicais e subtropicais, em águas costeiras e ao redor de ilhas, sendo rara a ocorrência em águas temperadas. As maiores colônias nidificam em praias da Costa Rica, do Suriname, da Austrália e da Nova Caledônia, e em áreas oceânicas remotas como a Ilha de Ascensão (FAO, 1990). No Brasil, as ilhas oceânicas são as principais áreas de desova desta espécie: Ilha da Trindade, no Espírito Santo (MOREIRA et al., 1995); Atol das Rocas, no Rio Grande do Norte (BELLINI et al., 1996); e Fernando de Noronha, em Pernambuco (BELLINI, SANCHES, 1996).

São ectotérmicos, com zona de conforto térmico entre 25°C e 30°C (CUBAS, BAPTISTOTTE, 2006), por isso os fatores externos, como as condições ambientais, têm maior influência na fisiologia e saúde normal destes animais em relação aos endotérmicos

(CAMPBELL, 2007). O sexo só pode ser determinado por características externas após a puberdade (WYNEKEN et al., 2006), que ocorre de 15 a 20 anos.

O ceco não é muito desenvolvido, por isso a fermentação bacteriana ocorre principalmente no intestino grosso. O trânsito intestinal é lento e sofre influências da temperatura corporal, frequência da alimentação, e quantidade de água e fibras ingeridas (CUBAS, BAPTISTOTTE, 2006).

As funções do fígado dos répteis são semelhantes às dos mamíferos e aves: metabolismo de gorduras, proteínas e glicogênio, e produção de ácido úrico e fatores de coagulação (DIVERS, COOPER, 2000).

Os testudines apresentam sistema-porta renal. Carecem de alça de Henle, por isso não concentram urina (CUBAS, BAPTISTOTTE, 2006). As tartarugas aquáticas excretam ácido úrico, amônia e uréia. (CAMPBELL, 2007), e são dotadas de glândula do sal, uma estrutura que participa na regulação de sódio, potássio e cloretos no sangue (CAMPBELL, 2006).

Após deixar as praias de desova, os filhotes iniciam uma fase pelágica (em mar aberto) que dura vários anos, até que atinjam 20 a 30 cm de comprimento da carapaça (MEYLAN, MEYLAN, 1999). Enquanto filhote, *C. mydas* é uma espécie onívora com tendências a carnívora, tornando-se basicamente herbívora a partir dos 25 – 35 cm de comprimento de casco (BJORNDAL, 1997).

O litoral do Rio Grande do Sul é uma importante área de alimentação e desenvolvimento para juvenis (30 a 50 cm de comprimento curvilíneo da carapaça) da espécie *C. mydas* (PINEDO et al., 1996; BUGONI et al., 2001).

Nos últimos duzentos anos, uma combinação particular de fatores como a sobrepesca comercial, a captura incidental, a destruição de *habitats* de alimentação, de nidificação e de repouso e, mais recentemente, a poluição dos mares, vem provocando o declínio das populações de tartarugas marinhas: a maioria destas encontra-se em declínio, freqüentemente a níveis críticos, e muitas já se extinguíram (IUCN, 1995). A espécie *C. mydas* consta na lista brasileira de espécies ameaçadas de extinção (IN 0003 do MMA de 27 de maio de 2003), e é considerada em perigo de extinção pela União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN, 2004).

Uma das principais causas de mortalidade de tartarugas marinhas no litoral do Rio Grande do Sul é a captura incidental em artefatos de pesca, redes de arrasto, emalhe e espinhéis (ARECO, 1997). Estudos com tartarugas marinhas realizados no litoral do Rio Grande do Sul registraram encalhes de *C. mydas* vivas, porém debilitadas, letárgicas,

emaciadas e eventualmente apresentando epibiontes e/ou marcas de interação com pesca (MONTEIRO, 2004).

b. Indicadores Bioquímicos

Knotková et al. (2002) sugeriram que proteína plasmática total (PPT), glicose, ácido úrico, colesterol, fósforo, fosfatase alcalina (ALP), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), sódio, potássio e cálcio sejam utilizados na determinação do perfil bioquímico de tartarugas terrestres da espécie *Agrionemys horsfieldi* em condições de cativeiro.

Os parâmetros PPT, glicose, ácido úrico, creatinina, uréia, ALT, AST, ALP, creatina cinase (CK), bilirrubinas, albumina, triglicerídeos, amilase, lipase e gamaglutamiltransferase (GGT) foram os escolhidos para compor o perfil bioquímico de tartarugas marinhas em cativeiro no trabalho de Jorge (2003).

Para Campbell (2007), os componentes do perfil bioquímico sanguíneo mais úteis para répteis são PT, glicose, ácido úrico, AST, CK, cálcio e fósforo, enquanto analitos como creatinina, lactato desidrogenase, sódio, potássio e cloro também podem contribuir para o diagnóstico.

Deste modo, com base na revisão de literatura, no objetivo do trabalho e nas limitações econômicas, os indicadores selecionados para análise no presente estudo foram ALT, AST, ALP, CK, creatinina, uréia, ácido úrico, proteínas totais, albumina, globulinas, glicose, triglicerídeos, fósforo, cloretos, sódio, potássio e cálcio. Também foram utilizadas as razões entre albumina e globulinas, e entre cálcio e fósforo. As fontes, a fisiologia, o significado clínico e o valor diagnóstico dos analitos escolhidos são a seguir descritos:

ALT e AST

ALT e AST pertencem a um grupo de enzimas que catalisa a conversão de aminoácidos e oxiácidos através da transferência de grupos amino. Embora haja numerosas enzimas envolvidas na cascata, ALT e AST são as de maior importância clínica (HOCHLEITHNER, 1994). A determinação de ALT e AST não pode ser considerada um teste específico para um órgão, uma vez que: (1) embora ALT ocorra no fígado de répteis, não é uma enzima confiável para a detecção de dano hepático, uma vez que o tecido hepático de alguns répteis apresenta pouca atividade desta enzima (CAMPBELL, 1996, CAMPBELL, 2006); e (2) AST está presente em todos os tecidos do organismo animal, e seu aumento sérico está relacionado a problemas hepáticos, musculares e no miocárdio (CAMPBELL, 1996).

Por outro lado, os rins de répteis apresentam alta atividade de ALT e de ALP. No entanto, em doença renal, não se verifica aumento importante na atividade plasmática dessas enzimas, pois a maior parte das enzimas liberadas das células renais lesadas é excretada na urina, e não no plasma (CAMPBELL, 2007).

ALP

É uma enzima existente nas células de vários órgãos, porém o aumento de sua atividade está relacionado principalmente ao fígado e aos ossos (BUSH, 1994). Está envolvida na transferência de energia para a troca de íons através da membrana celular. Seu aumento pode ser consequência de vazamentos por dano celular e de aumento da atividade celular (HOCHLEITHNER, 1994).

CK

Catalisa a reação reversível de fosforilação da creatina para formar creatina fosfato. É um indicador bastante sensível de dano muscular (KRAMER, HOFFMANN, 1997). É utilizada primariamente para diagnóstico de lesões no músculo esquelético (BUSH, 1994), mas pode estar associada a aumento na atividade física e a reação à contenção no momento da coleta sanguínea (CAMPBELL, 2006).

Danos aos hepatócitos podem levar a elevação de várias enzimas intracelulares, entre elas AST, ALT e ALP. No entanto, estes parâmetros estão amplamente distribuídos em outros tecidos, como músculo e rim, tornando essencial a determinação de CK para ajudar na distinção entre dano muscular e hepático (DIVERS, 2000).

Creatinina, Uréia e Ácido Úrico

A creatinina é o produto do catabolismo da creatina, a principal fonte fosforilada de ATP no tecido muscular. A excreção da creatinina ocorre via renal, refletindo a taxa de filtração e, conseqüentemente, a funcionalidade do órgão (GONZÁLEZ, SILVA, 2006).

Os níveis de creatinina elevam-se quando o indivíduo apresenta uma desidratação severa, porém geralmente são um indicador de pouco valor diagnóstico de doença renal em répteis, uma vez que podem não estar elevados mesmo na falência renal (CAMPBELL, 1996; CAMPBELL, 2007).

A uréia é sintetizada no fígado a partir do grupo amina liberado pelos aminoácidos durante o catabolismo das proteínas. A maior parte é excretada através da urina, sendo por isto utilizada como indicador do funcionamento renal nos animais ureotélicos (GONZÁLEZ,

SILVA, 2006). Embora considerada de pouco valor diagnóstico em répteis, a determinação da uréia apresenta certa utilidade limitada na detecção precoce da desidratação, e juntamente com o ácido úrico encontra-se alterada nos distúrbios hídricos do organismo (DIVERS, 2000).

O ácido úrico é o produto final do catabolismo primário de proteínas, nitrogênio não protéico e purinas em répteis. Os carnívoros tendem a apresentar níveis séricos mais elevados de ácido úrico do que herbívoros (CAMPBELL, 1996). É um dos indicadores que se mostram aumentados em caso de desidratação, mas seus níveis podem estar reduzidos em caso de doença hepática (DIVERS, 2000). Níveis elevados de ácido úrico também podem indicar insuficiência renal e estão correlacionados com diversas condições, incluindo as septicemias (WALLACH, BOEVER, 1983).

As concentrações de uréia e creatinina no plasma de répteis são consideradas de pouca importância prática para o monitoramento da fisiologia hepática e renal por dois motivos: primeiro, a maioria dos répteis são uricotélicos, como é o caso da tartaruga-verde; e segundo, répteis com doença renal freqüentemente apresentam valores normais de uréia e creatinina. Deste modo, embora os níveis de ácido úrico não aumentem significativamente até que haja um extenso dano renal (MILLER, 1998), dentre os três analitos citados acima a concentração de ácido úrico parece ser o indicador mais confiável de doença renal nestes animais (DIVERS et al. 1996).

Proteínas Totais

As principais proteínas do soro são a albumina e as globulinas. A albumina é uma proteína sintetizada no fígado que corresponde a cerca de 50% do total de proteínas no soro (SANTOS, 1999; GONZÁLEZ, SILVA, 2006). Desempenha importante papel no controle da osmolaridade do plasma, no armazenamento de aminoácidos, no transporte de muitos nutrientes e no equilíbrio do pH sanguíneo (GONZÁLEZ, SILVA, 2006).

As globulinas, por sua vez são proteínas produzidas pelos linfócitos B com função principal de defender o organismo contra elementos estranhos, através de sua fração gama, sendo importantes indicadores da presença de processos inflamatórios (GONZÁLEZ, SILVA, 2006). A relação albumina:globulinas é um indicador útil na detecção de discrasias protéicas (KANEKO, 1997).

Em répteis a hipoproteinemia - por queda nos níveis de albumina, principalmente - está geralmente associada a má nutrição crônica, má absorção, enteropatias, e doenças renais e hepáticas crônicas (DIVERS, 2000; CAMPBELL, 2006). Já a hiperproteinemia ocorre por desidratação ou hiperglobulinemia, associada à doença inflamatória crônica (CAMPBELL,

2006), embora a fração alfa da globulina possa estar diminuída na enfermidade hepática concomitante (DIVERS, 2000).

Glicose

A glicose é um dos principais combustíveis utilizados pelo organismo para a realização dos trabalhos biológicos (GONZÁLEZ, SILVA, 2006). A glicemia de répteis saudáveis varia de acordo com a espécie, o estado nutricional, as condições ambientais e o estresse (DIVERS, 2000; CAMPBELL, 2006).

Hipoglicemia pode ser resultado de severas hepatopatias (DIVERS, 2000). A hiperglicemia é raramente reportada em répteis, porém indivíduos que a apresentem juntamente com glicosúria são candidatos a diabetes mellitus (CAMPBELL, 1996).

Triglicerídeos

São o produto da esterificação dos ácidos graxos com o glicerol, servindo de reserva de energia (GONZÁLEZ, SILVA, 2006). Podem ser exógenos, formados a partir de triglicerídeos de cadeia longa provenientes da dieta nas células da mucosa intestinal, e transportados sob a forma de quilomícrons; ou endógenos, sintetizados no fígado e transportados no sangue sob a forma de VLDL, *very-low-density-lipoproteins* (BUSH, 1991).

Eletrólitos

O fósforo é um componente da estrutura da matriz óssea, estando presente no esqueleto como fosfato inorgânico. Além disso, está presente em moléculas vitais para o crescimento como nucleoproteínas, fosfoproteínas, fosfolipídeos, e ácidos nucleicos (GONZÁLEZ, SILVA, 2006). Em répteis, concentrações de fósforo elevadas não relacionadas à alimentação e atividade reprodutiva são os indicadores mais confiáveis de insuficiência renal (WALLACH, BOEVER, 1983).

O cloreto é o principal ânion no sangue e o componente osmoticamente ativo primário na maioria dos répteis. A concentração de cloro no sangue é uma informação útil a respeito de distúrbios hidroeletrólíticos e do equilíbrio ácido-base (ALMOSNY, MONTEIRO, 2006). Em répteis, hiperclorémia está associada à desidratação, doença tubular renal e doenças na glândula do sal (CAMPBELL, 2007).

O potássio participa da manutenção do equilíbrio ácido-básico e da pressão osmótica das células, e, juntamente com o sódio, é responsável pelo potencial de membrana nas células do sistema nervoso central e dos músculos (GONZÁLEZ, SILVA, 2006). O íon sódio é útil

na avaliação do equilíbrio hidroeletrólítico e ácido-base, e da desidratação, enquanto o potássio apresenta-se alterado nos distúrbios hidroeletrólíticos (ALMOSNY, MONTEIRO, 2006) e na insuficiência renal, em função da troca com o hidrogênio em nível celular para compensação da acidose que acompanha a alteração da função renal (GONZÁLEZ, SILVA, 2006).

O cálcio exerce importante função na composição do esqueleto e em reações de coagulação sangüínea, manutenção da integridade e permeabilidade das membranas celulares, na estimulação dos músculos esqueléticos e cardíacos e na condução neuromuscular (SANTOS, 1999). A concentração sérica de cálcio é afetada pela concentração total de proteína plasmática, ou mais especificamente, pela concentração sérica de albumina (COLES, 1986). Este indicador é utilizado para diagnosticar distúrbios do metabolismo do cálcio e fósforo (ALMOSNY, MONTEIRO, 2006).

A elevação nos níveis séricos de fósforo estão frequentemente associados à falência renal, enquanto que a relação cálcio:fósforo é um parâmetro sensível para o diagnóstico de estágios precoces de doença renal (KÖLLE, HOFMANN, 2001).

Ácido úrico, fósforo e ocasionalmente cálcio têm se mostrado indicadores mais úteis de insuficiência renal. Concentrações de fósforo elevadas não relacionadas à alimentação e atividade reprodutiva são os indicadores mais confiáveis de insuficiência renal. Níveis elevados de ácido úrico também podem indicar insuficiência renal e estão correlacionados com diversas condições, incluindo as septicemias (WALLACH, BOEVER, 1983).

3. Objetivos

O objetivo geral deste estudo é determinar o perfil bioquímico de tartarugas-verdes juvenis selvagens, oriundas de redes de pesca e de encalhes de praia, utilizando ferramentas bioquímicas disponíveis e sugeridas pela literatura, com o objetivo de melhorar os protocolos de reabilitação destes animais.

Para isto foram definidos como objetivos específicos deste trabalho (a) observar se há diferença entre os valores bioquímicos dos indivíduos capturados em rede e dos encalhados na praia; (b) verificar se os indivíduos recolhidos de encalhes de praia se encontram enfermos; e (c) determinar os parâmetros mais sensíveis para a triagem dos indivíduos enfermos.

4. Materiais e Métodos

a. Animais

Foram utilizadas tartarugas-verdes (*C. mydas*) encaminhadas ao Centro de Recuperação de Animais Marinhos - CRAM - Museu Oceanográfico “Prof. Eliézer de C. Rios” - FURG, entre os anos de 2004 e 2006, machos e fêmeas, juvenis (CCC entre 30 cm e 50 cm). O grupo “rede” (n=12), utilizado como controle, é composto por indivíduos capturados incidentalmente em redes de pesca, conforme metodologia descrita por Bolten e Bjorndal (1992), enquanto que o grupo “praia” (n=21) refere-se aos indivíduos encalhados na praia.

b. Amostras

Para todos os indivíduos foram tomadas duas medidas: o comprimento curvilíneo da carapaça (CCC), em centímetros, do ponto anterior médio do escudo nugal até a extremidade posterior dos escudos supracaudais (BOLTEN, 1999) (Fig. 2); e a massa corporal em gramas. Estas medidas são utilizadas no cálculo de um índice para determinar a condição corporal dos animais (IC), através da razão entre o CCC e a massa, os quais apresentam alta correlação (JUNQUEIRA et al., 2005).



Figura 2: Medida do CCC do ponto anterior médio do escudo nugal até a extremidade posterior dos escudos supracaudais.
Fonte: Acervo CRAM.

Amostras de sangue foram coletadas do seio cervical dorsal (OWENS, RUIZ, 1980), (Fig. 3) com agulhas 25 x 7 e seringas de 5 mL, e transferidas para tubos estéreis sem

anticoagulante. Após a retração do coágulo, os tubos foram transportados sob refrigeração ao Laboratório de Determinações do Departamento de Ciências Fisiológicas - FURG, onde foram centrifugados a 6500 x g por 10 minutos para obtenção do soro. O material foi armazenado a -20° C até o momento da realização das análises.



Figura 3. Colheita de sangue do seio cervical dorsal em tartaruga-verde.

Fonte: Acervo CRAM.

c. Análises bioquímicas no soro:

Os ensaios foram realizados de acordo com os protocolos estabelecidos pelos fabricantes dos kits utilizados. Alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (ALP), creatina cinase (CK), creatinina, uréia, ácido úrico, proteínas totais, albumina, globulinas, glicose, triglicerídeos, fósforo (P), cloretos (Cl) e cálcio (Ca) foram determinados através de espectrofotometria em fotocolorímetro semi-automático marca LabQuest e kits Labtest[®]. Sódio (Na) e potássio (K) foram medidos através de fotometria de chama em fotômetro de chamas (Digimed[®] modelo DM-61, São Paulo). Também foram calculadas as relações entre albumina e globulina e entre cálcio e fósforo.

d. Análise Estatística:

Os dados foram submetidos à comparação das médias através do teste "t" de Student a 95% de significância. A normalidade das variáveis foi previamente testada através do teste de Kolmogorov-Smirnov com 95% de confiança ($p \geq 0,05$), e foram feitas as transformações matemáticas quando necessário: log₁₀ para ALT, ALP, CK, albumina:globulina e Na; e

$\log_{10}(\log_{10})$ para CI (ZAR, 1984). Os resultados foram representados como média e desvio-padrão da média. Também foi utilizada uma análise discriminante com todas as variáveis para determinar a presença de um perfil bioquímico característico de animais encalhados na praia. Além disso, foram calculadas as relações entre as médias de cada indicador apurado para os animais dos dois grupos: média da variável no grupo “praia” dividido pela média da variável no grupo “rede” (MP/MR).

5. Resultados e Discussão

O perfil bioquímico dos indivíduos investigados é apresentado na tabela 1.

Os resultados encontrados neste estudo foram comparados aos registrados por Bolten e Bjorndal (1992), Aguirre e Balazs (2000) e Swimmer (2000) para *C. mydas*.

Os valores de ALP, creatinina, ácido úrico, glicose, fósforo, sódio e potássio foram semelhantes aos descritos para indivíduos saudáveis da mesma espécie por estes autores.

Para ALT e AST a literatura registra valores pouco uniformes, amplos intervalos de referência e desvios-padrão altos, à semelhança do que foi encontrado neste estudo. Segundo Campbell (2007), apesar de os rins de répteis possuírem elevada atividade de ALT e ALP, estas enzimas não são indicadores séricos confiáveis de doença renal nestes animais por serem excretadas na urina. Além disso, o tecido hepático de répteis apresenta alta atividade da enzima AST, mas esta não é específica deste órgão, pois está presente em vários tecidos. A atividade plasmática dessas enzimas pode aumentar durante a doença hepática, porém a elevação de AST parece ter maior importância clínica (DIVERS, COOPER, 2000).

A doença hepática eleva o nível de AST, ALT e ALP, porém estes parâmetros estão largamente distribuídos em outros tecidos como o rim e o músculo, e a determinação de CK pode ser útil para diferenciar fontes musculares e não musculares da enzima (DIVERS, COOPER, 2000).

As médias de proteínas totais, albumina e globulinas foram ligeiramente inferiores às encontradas nos outros trabalhos, porém as proporções entre elas foram mantidas, bem como a relação albumina:globulinas.

Os triglicerídeos, por sua vez, apresentaram médias inferiores aos valores registrados pelos outros autores para *C. mydas*. O mesmo ocorreu com o cálcio, porém neste caso os resultados encontram-se dentro do intervalo de referência citado em literatura.

Tabela 1: Média, desvio-padrão e tamanho da amostra dos indicadores analisados para os dois grupos de indivíduos. O número de asteriscos indica o p: * $p < 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

| Indicador | Grupo “rede” | | | Grupo “praia” | | |
|-------------------------|--------------|---------|----|---------------|---------|----|
| | média | dp | n | média | dp | n |
| ALT (U/L) | 25,47 * | 18,52 | 12 | 17,72 | 44,32 | 21 |
| AST (U/L) | 193,78 | 138,55 | 12 | 130,42 | 130,25 | 19 |
| ALP (U/L) | 54,84 * | 62,06 | 12 | 26,11 | 26,82 | 21 |
| CK (U/L) | 2335,74 * | 2646,17 | 11 | 975,07 | 1476,80 | 20 |
| Creatinina (mg/dL) | 0,31 ** | 0,07 | 12 | 0,47 | 0,15 | 21 |
| Uréia (mg/dL) | 54,28 *** | 16,53 | 12 | 186,71 | 131,07 | 20 |
| Ácido úrico (mg/dL) | 1,65 ** | 0,76 | 12 | 3,00 | 1,43 | 21 |
| Proteínas Totais (g/dL) | 2,92 | 0,61 | 12 | 2,47 | 1,04 | 21 |
| Albumina (g/dL) | 1,21 | 0,26 | 12 | 1,05 | 0,31 | 21 |
| Globulinas (g/dL) | 1,71 | 0,44 | 12 | 1,42 | 0,84 | 21 |
| Albumina:globulinas | 0,73 | 0,16 | 12 | 0,94 | 0,53 | 20 |
| Glicose (mg/dL) | 100,83 | 16,29 | 12 | 107,76 | 40,80 | 21 |
| Triglicerídeos (mg/dL) | 63,67 | 35,95 | 12 | 75,24 | 37,6 | 21 |
| Fósforo (mg/dL) | 8,58 | 2,99 | 12 | 8,72 | 6,19 | 21 |
| Cloretos (mEq/L) | 108,88 * | 10,30 | 12 | 125,98 | 22,79 | 21 |
| Sódio (mmol/L) | 154,55 | 8,80 | 11 | 165,67 | 26,97 | 21 |
| Potássio (mmol/L) | 4,25 | 0,33 | 12 | 4,41 | 0,46 | 21 |
| Cálcio (mg/dL) | 2,98 | 0,88 | 12 | 2,31 | 1,08 | 19 |
| Cálcio:Fósforo | 3,62 | 1,07 | 12 | 3,95 | 2,02 | 19 |
| Índice Corporal | 6,14 ** | 0,94 | 11 | 7,36 | 1,73 | 21 |

Por outro lado, os níveis de uréia por nós registrados foram bastante superiores aos relatados na literatura para indivíduos saudáveis, até mesmo para o grupo “rede”, enquanto que o grupo “praia” apresentou valores três vezes maiores que o controle.

Não foi encontrada referência de CK em *Chelonia mydas* na literatura consultada, mas os valores obtidos neste estudo são semelhantes aos registrados para as espécies *Caretta caretta* (GEORGE, 1997) e *Lepidochelys kempii* (CARMINATI et al., 1994), da mesma família.

A concentração plasmática ou sérica normal de cloretos em tartarugas marinhas está situada entre 100 e 110 mEq/L (CAMPBELL, 2007). Estes valores foram semelhantes aos registrados neste estudo para o grupo “rede”. A relação cálcio:fósforo encontrada neste estudo corresponde a de répteis saudáveis, a qual é normalmente maior que a unidade (MADER, 1997).

Muitos parâmetros registrados na tabela 1 apresentaram grande variação no intervalo de referência para ambos os grupos. Estas variações são igualmente verificadas na literatura disponível, e são devidas a vários fatores tais como a variedade da alimentação e o estresse de captura (BOLTEN, BJORN DAL, 1992), o efeito da variabilidade da população e a falta de repetibilidade da amostra (AGUIRRE, BALAZS, 2000), e os métodos de coleta, manuseio e análise bioquímica do material (CAMPBELL, 2007).

Dos 20 indicadores medidos, oito foram significativamente diferentes entre os dois grupos. As médias de ácido úrico, uréia, creatinina, cloretos e índice corporal foram superiores no grupo “praia”, enquanto que as médias de ALT, ALP e CK foram maiores no grupo “rede”. As demais médias, embora estatisticamente iguais, apresentaram desvios-padrão maiores no grupo “praia”, exceto AST, mostrando a grande variação dos dados neste grupo. Por outro lado, o grupo “rede” apresentou resultados mais próximos da média, sugerindo maior homogeneidade da amostra.

A ALT, embora ocorra no fígado de répteis, não é uma enzima confiável para a detecção de dano hepático, uma vez que o tecido hepático de alguns répteis apresenta pouca atividade desta enzima (CAMPBELL, 1996, CAMPBELL, 2006). A doença hepática eleva o nível de AST, ALT e ALP, porém estes parâmetros estão largamente distribuídos em outros tecidos como o rim e o músculo, e a determinação de CK pode ser útil para diferenciar fontes musculares e não musculares da enzima (DIVERS, COOPER, 2000). Além disso, o diagnóstico das várias formas de doença hepática em répteis é muito complexa e depende da combinação de diferentes métodos como ensaios bioquímicos, diagnóstico por imagem e exames histopatológicos de biópsia hepática (DIVERS, COOPER, 2000).

A CK, utilizada primariamente para diagnóstico de lesões no músculo esquelético (BUSH, 1991), pode estar associada a aumento na atividade física e a reação à contenção no momento da coleta sangüínea (CAMPBELL, 2006). A quantidade de uma enzima no soro é função de sua concentração celular, massa tecidual total, magnitude do dano celular, morte celular normal e meia-vida da enzima. A quantidade de CK no soro aumenta proporcionalmente à massa muscular (KRAMER, HOFFMANN, 1997), a qual foi maior no grupo “rede”. Além disso, não é necessário haver morte celular para que ocorra liberação de enzimas: um curto período de hipóxia é suficiente para alterar a integridade da membrana e permitir o vazamento de enzimas para a circulação (KRAMER, HOFFMANN, 1997).

O teor de ácido úrico no plasma não é um indicador sensível nem específico de doença renal em répteis. Segundo Campbell (2007), a hiperuricemia associada à doença renal freqüentemente resulta em um aumento superior a duas vezes na concentração do ácido úrico,

o que não foi verificado em nossos resultados. Por outro lado, a desidratação pode exercer profundos efeitos nos níveis séricos de ácido úrico (MILLER, 1998), embora a produção hepática possa estar reduzida em caso de doença renal (DIVERS, 2000).

Embora considerada de pouco valor diagnóstico em répteis, a determinação da uréia apresenta certa utilidade limitada na detecção precoce da desidratação (DIVERS, 2000). Os altos níveis de uréia encontrados no grupo “praia” neste estudo sugerem que as tartarugas, além de desidratadas, podem estar sofrendo um processo de catabolismo dos tecidos em consequência de febre, trauma, infecções e toxemia (COLES, 1986).

Os níveis de creatinina elevam-se quando o indivíduo apresenta uma desidratação severa, porém geralmente são um indicador de pouco valor diagnóstico de doença renal em répteis (CAMPBELL, 1996; CAMPBELL, 2007).

A hipercloremia, por sua vez, está associada à desidratação e possivelmente à doença tubular renal ou a distúrbios da glândula do sal (CAMPBELL, 2007). No entanto, não foi verificado aumento nos níveis de albumina do grupo “praia”, o que geralmente ocorre na desidratação (DIVERS 2000).

Segundo Wallach e Boever (1983), valores de ácido úrico, fósforo e ocasionalmente cálcio têm se mostrado indicadores mais úteis de alterações renal. Concentrações de fósforo elevadas não relacionadas à alimentação e atividade reprodutiva são os indicadores mais confiáveis de insuficiência renal. No entanto, os níveis de fósforo e cálcio não se mostraram alterados neste estudo, nem tampouco a relação Ca:P.

Deste modo, segundo a literatura consultada, os parâmetros bioquímicos que se apresentam alterados no grupo “praia” são mais sugestivos de desidratação do que de doença renal. No entanto, nenhum animal veio a óbito no grupo “rede”, enquanto o percentual de morte no grupo “praia” foi de 23,81%. Isto faz suspeitar da presença de enfermidades concomitantes não diagnosticadas através dos parâmetros bioquímicos para este grupo, dada a variabilidade dos resultados encontrados.

Segundo Mader, (2000), a combinação de fatores que interferem nos valores sanguíneos fisiológicos dos répteis tornam quase impossível a interpretação dos resultados nestes animais, de modo que os resultados obtidos nos testes devem ser usados para identificar tendências e padrões.

Na tentativa de encontrar parâmetros mais sensíveis para a triagem dos indivíduos enfermos foi utilizada uma análise discriminante, a qual apontou 7 variáveis que diferenciam os grupos “rede” e “praia”: ácido úrico, creatinina, uréia, AST, cálcio:fósforo, glicose e albumina:globulinas. Os três primeiros indicadores revelaram uma relação MP:MR maior que

1,5 entre as médias, com média superior no grupo “praia”, sugerindo sua utilidade para diferenciar os animais enfermos dos saudáveis, uma vez que tartarugas encalhadas na praia supostamente apresentam saúde mais frágil do que as capturadas em rede.

6. Conclusão e Comentários

O resultado deste estudo, apesar do pequeno número de indivíduos, contribui para aumentar a informação sobre os perfis bioquímicos de referência de tartarugas-verdes juvenis selvagens, capturadas acidentalmente em redes de pesca no litoral sul do Rio Grande do Sul, bem como de animais encalhados nas praias, e por isto suspeitos de apresentar alguma enfermidade. O perfil dos analitos alterados indica que os indivíduos do grupo “praia” estão desidratados e sugere os primeiros estágios de um quadro de falência renal.

As técnicas bioquímicas tradicionais parecem ser adequadas para a determinação dos perfis destes animais. No entanto, a interpretação dos resultados fica prejudicada não só pela grande variabilidade dos dados obtidos como também pelas particularidades fisiológicas da espécie, conforme observado por outros autores.

Ácido úrico, creatinina e uréia demonstraram ser os indicadores mais promissores para auxiliar no diagnóstico de doenças que acometem os animais encalhados na praia. Por fim, este estudo espera ter contribuído para melhorar as estratégias de manejo e conservação das tartarugas-verdes.

Referências

- AGUIRRE, A. A.; BALAZS, G. H. Blood biochemistry values of green turtles, *Chelonia mydas*, with and without fibropapillomatosis. **Comparative Haematology International**. 2000. v. 10, p. 132–137.
- ALMOSNY, N. P.; MONTEIRO, A. O. Patologia clínica. In: CUBAS, Z. S., SILVA, J. C. R., CATÃO-DIAS, J. L. (eds.). **Tratado de Animais Selvagens**: medicina veterinária. São Paulo: Roca. 2006. cap. 59, p. 939 - 979.
- ARECO, D. Captura incidental de tartaruga marinha na pesca artesanal no litoral sul do Rio Grande do Sul. Monografia de Conclusão de Curso, Fundação Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Rio Grande. 1997.
- BELLINI, C.; MARCOVALDI, M. Â.; SANCHES, T. M.; GROSSMAN, A.; SALES, G. Atol das Rocas Biological Reserve: second largest *Chelonia* rookery in Brazil. **Marine Turtle Newsletter**. 1996. v. 72, p.1-2.
- BELLINI, C.; SANCHES, T. M. Reproduction and feeding of marine turtles in the Fernando de Noronha Archipelago, Brazil. **Marine Turtle Newsletter**. 1996. v. 74, p.12-13.
- BJORNDAL, K. A. Foraging ecology and nutrition of sea turtles. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. (Eds). **The biology of sea turtle**. Boca Raton, USA: CRC Press. 1997. cap. 8, p. 199-231.
- BOLTEN, A. B. Techniques for measuring sea turtles. In: ECKERT, K. L.; BJORNDAL, K. A.; ABREU-GROBOIS, F. A.; DONNELLY, M. (Eds.). **Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles**. IUCN/SSC. Marine Turtle Specialist Group Publication 4. 1999. cap. 4, p. 110-114.
- BOLTEN, A. B.; BJORNDAL, K. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. **Journal of Wildlife Diseases**. 1992. v. 28, n. 3, p.407-413.
- BUGONI, L.; KRAUSE, L.; PETRY, M.V. Marine debris and human impacts on sea turtles in southern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**. 2001. v. 41, p.1338-1342.
- BUSH, B. M. **Interpretation of laboratory results for small animal clinicians**. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 1994. 515 p.
- CAMPBELL, T. W. Clinical pathology. In: MADER, D. R. (ed): **Reptile Medicine and Surgery**. Philadelphia, PA: W. B. Saunders. 1996. cap. 22, p. 248-257.
- CAMPBELL, T. W. Clinical pathology. In: MADER, D. R. (ed): **Reptile Medicine and Surgery**. St. Louis, Missouri: Elsevier Inc. 2nd ed. 2006. cap 28, p. 248-257.
- CAMPBELL, T. W. Bioquímica clínica de répteis. In: THRALL, M. A. (ed): **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. cap. 33, p. 461-466.

CARMINATI, C. E.; GERLE, E.; KIEHN, L. L.; PISCIOTTA, R. P. Blood chemistry comparison of healthy vs. hypothermic juvenile Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*). In: 14th Annual Workshop on Sea Turtle Conservation and Biology. 1994. Miami, FL. Proceedings of 14th Annual Workshop on Sea Turtle Conservation and Biology. Bjorndal, K. A., Bolten, A. B., Johnson, D. A., Compilers. N.M.F.S. Tech Mem., NOAA-TM-NMFS-SEFSC-351, p. 203.

COLES, E. H. **Veterinary clinical pathology**. Philadelphia, PA: W. B. Saunders. 1986. 486 p.

CUBAS, P. H; BAPTISTOTTE, C. Chelonia (tartaruga, cágado, jabuti). In: CUBAS, Z. S., SILVA, J. C. R., CATÃO-DIAS, J. L. (eds.). **Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca. 2006. cap. 9, p. 86 - 119.

DIVERS, S. J.; REDMAYNE, G.; AVES, E. K. Haematological and biochemical values of 10 green iguanas (*Iguana iguana*). **Veterinary Record**. 1996. v. 138. p. 203-205.

DIVERS, S. Reptilian renal and reproductive disease diagnosis. In: FUDGE, A. M. (Ed). **Laboratory Medicine: avian and exotic pets**. Philadelphia, PA: W. B. Saunders. 2000. cap. 25, p. 217-222.

DIVERS, S. J.; COOPER, J. E. Reptile hepatic lipidosis. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**. 2000. v. 9, p. 153-164.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. 1990. Sea Turtles of the world. An annotated and illustrated catalogue of sea turtle species known to date. **FAO Fisheries Synopsis**, Rome, v. 11, n. 125, 81 p.

GEORGE, R. H. Health problems and diseases of sea turtles. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. (Eds). **The biology of sea turtle**. Boca Raton, FL: CRC Press. 1997. cap. 14, p. 363-385.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: UFRGS. 2^a ed. 2006. 357 pp.

HOCHLEITHNER, M. Biochemistry. In: RITCHIE, B. W., HARRISON, G. J., HARRISON, L. R. (Eds). **Avian Medicine: principles and application**. Lake Worth, FL: Wingers Publishing. 1994. cap. 11, p. 223-245.

INTERNATIONAL UNION FOR THE CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES - IUCN. 1995. Estrategia Mundial para la Conservación de las Tortugas Marinas. IUCN/SSC, USA.

INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE - IUCN. Red list of threatened animals. 2004. Disponível em: www.redlist.org. Acessado em 25/09/2005.

JORGE, P. B. Perfil hematológico e bioquímico das tartarugas marinhas mantidas em cativeiro na base do projeto TAMAR em Ubatuba – SP. Monografia de Conclusão de Curso, Universidade Paulista – UNIP, São Paulo. 2003.

JUNQUEIRA, S. P.; MEIRELLES LEITE, A. T.; SILVA FILHO, R. P.; COLARES, E. P. Determinação da condição corporal em *Chelonia mydas* juvenis vivas de acordo com o tipo de registro no litoral do Rio Grande do Sul. In: II Jornada de Conservação e Pesquisa de Tartarugas Marinhas no Atlântico Sul Ocidental. 2005. Rio Grande, Brasil. Livro de resumos da II Jornada de Conservação e Pesquisa de Tartarugas Marinhas no Atlântico Sul Ocidental. p.114-116.

KANEKO, J. J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J, HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. (Eds.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego, CA: Academic Press. 1997. cap. 5, p. 117-138.

KRAMER, J. W.; HOFFMANN, W. E. Clinical Enzymology. In: KANEKO, J. J, HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. (Eds.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego, CA: Academic Press. 1997. cap. 12, p. 303-325.

KNOTKOVÁ, J.; DOUBEK, Z.; KNOTEK, P.; HÁJKOVÁ. Blood cell morphology and plasma biochemistry in russian tortoises (*Agrionemys horsfieldi*). **Acta Vet. Brno**. 2002. v. 71, p. 191–198.

KÖLLE, P.; HOFFMANN, R. Renal diseases in reptiles: diagnostic tools. In: 40th Symposium on Diseases of Zoo and Wild Animals. 2001. Rotterdam. Proceedings of 40th Symposium on Diseases of Zoo and Wild Animals, p. 67-69.

MADER, D. R. Reptilian urogenital system and renal disease. 21st Annual Waltham/OSU Symposium. 1997.

MADER, D. R. Reptilian metabolic disorders. In: FUDGE, A. M. (Ed). **Laboratory Medicine: avian and exotic pets**. Philadelphia, PA: W. B. Saunders. 2000. cap. 24, p. 210-216.

MEIRELLES LEITE, A. T.; JUNQUEIRA, S. P.; SILVA FILHO, R. P. Reabilitação de tartaruga-verde, *Chelonia mydas*, no CRAM – Museu Oceanográfico – FURG, RS, Brasil. In: II Jornada de Conservação e Pesquisa de Tartarugas Marinhas no Atlântico Sul Ocidental. 2005. Rio Grande, Brasil. Livro de resumos da II Jornada de Conservação e Pesquisa de Tartarugas Marinhas no Atlântico Sul Ocidental. p. 100-102.

MEIRELLES LEITE, A. T., SILVA FILHO, R. P. Reabilitação de tartaruga-verde (*Chelonia mydas*) no litoral sul do Rio Grande do Sul. In: VILANI, R. G. C. (Ed.). **Avanços na Medicina de Animais Selvagens**. Curitiba: III Jornada Grupo Fowler, Encontro Nacional de Medicina de Répteis. 2007. cap. 17, p. 363-379.

MEYLAN, A. B.; MEYLAN, P. A. Introduction to the evolution, life history, and biology of sea turtles. In: ECKERT, K. L., BJORN DAL, K. A., ABREU-GROBOIS, F. A., DONNELLY, M. (Eds). **Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles**. IUCN/SSC. Marine Turtle Specialist Group Publication 4. 1999. cap. 1, p. 3-5.

MILLER, H. A. Urinary diseases of reptiles: pathophysiology and diagnosis. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**. 1998. v. 7, p. 93-103.

MONTEIRO, D. S. Encalhes e interação de tartarugas marinhas com a pesca no litoral do Rio Grande do Sul. Monografia de Conclusão de Curso, Fundação Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande. 2004.

MOREIRA, L.; BAPTISTOTTE, C.; SCALFONE, J.; THOMÉ, J.C.; ALMEIDA, A. P. L. S. de. Occurrence of *Chelonia mydas* on the Island of Trindade, Brazil. **Marine Turtle Newsletter**. 1995. v. 70, p. 2.

OWENS, D. W.; RUIZ, G. J. New method for obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. **Herpetologica**. 1980. v. 36, p.17-20.

PINEDO, M. C.; CAPITOLI, R. R.; BARRETO, A. S.; ANDRADE, A. Occurrence and feeding of sea turtles in southern Brazil. In: 16th Annual Symposium on Sea Turtle Conservation and Biology. 1996. Hilton Head, SC, EUA. Proceedings of 16th Annual Symposium on Sea Turtle Conservation and Biology. Byles, R; Fernandez, Y., Compilers. p. 117.

SANTOS, L. C. **Laboratório ambiental**. Cascavel: EDUNIOESTE. 1999. 323 pp.

SWIMMER, J.Y. Biochemical responses to fibropapilloma and captivity in the green turtle. **Journal of Wildlife Diseases**. 2000. v. 36, n.1, p. 102-110.

TAMAR. **As tartarugas marinhas no Brasil: estado da arte**. [2005?]. 152 p.

WALLACH, J. D.; BOEVER, W. J. Reptiles and amphibians. In: **Diseases of Exotic Animals: medical and surgical management**. Philadelphia, PA: W. B. Saunders. 1983. cap. 22, p. 979-1043.

WALSH, M. Rehabilitation of sea turtles. In: ECKERT, K. L., BJORNDAL, K. A., ABREU-GROBOIS, F. A., DONNELLY, M. (Eds). **Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles**. IUCN/SSC. Marine Turtle Specialist Group Publication 4. 1999. cap. 6, p. 202-207.

WYNEKEN, J.; MADER, D. R.; WEBER III, E. S.; MERIGO, C. Medical care of seaturtles. In: MADER, D. R. (ed): **Reptile Medicine and Surgery**. St. Louis, Missouri: Elsevier Inc. 2nd ed. 2006. cap. 76, p. 972-1007.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice Hall. 1884. 718 p.