



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
MESTRADO PROFISSIONAL EM ANÁLISES CLÍNICAS  
DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO

DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS EM RATOS SILVESTRES DO  
GÊNERO *Proechimys*.

ALEXANDRA PEREIRA

Belém, 31 de Março de 2015

**ALEXANDRA PEREIRA**

DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS EM RATOS SILVESTRES DO  
GÊNERO *Proechimys*.

Projeto de Mestrado profissionalizante  
apresentado ao programa de Pós-graduação em  
análises Clínicas, área de concentração em  
Diagnóstico Veterinário, do instituto de  
Ciências Biológicas, da Universidade Federal  
do Pará.

Orientador: Prof. Dr Moisés Hamoy

Co-Orientador: Dra. Klena S.M. da Silva

Belém, 31 de Março de 2015

**ALEXANDRA PEREIRA**

DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS EM RATOS SILVESTRES DO  
GÊNERO *Proechimys*.

Orientador: Prof. Dr. Moisés Hamoy  
Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos  
Naturais (LFTPN) / UFPA.

Co-Orientador: Dra. Klena S.M. da Silva  
Pesquisadora do Instituto Evandro Chagas IEC/SVS/MS

Banca Examinadora: Dra. Vanessa Joia de Melo

---

Dr. José Ricardo Dos Santos Vieira

---

Dr. Alexandre do Rosário Casseb

Membro Suplente: Dr. José Alexandre Lemos

---

Belém, 31 de Março de 2015

## EPÍGRAFE

*“Sonhos determinam o que você quer. Ação determina o que você conquista.”*

(Aldo Novak)

## DEDICATÓRIA

*Em especial aos meus pais, por tamanha dedicação e apoio aos momentos difíceis. Ao meu esposo e filho, por serem minha alegria e inspiração. Aos meus sobrinhos e irmão que me enchem de carinho, e a todos os amigos e familiares que me incentivaram de alguma forma. Á amiga KlenaSarges, que me amparou e incentivou no momento em que mais precisei, para descrever e desenvolver esta monografia.*

## AGRADECIMENTOS

*Á Jesus Cristo, amigo sempre presente, sem o qual nada teria feito.*

*Aos meus pais que são meu maior exemplo de honestidade, sucesso, perseverança e amor.*

*Ao meu esposo com quem compartilho todos os momentos da vida, além de ter ficado comigo até altas horas de todas as noites, formatando e fazendo maravilhas com tabelas e estatísticas. Eu amo você.*

*Ao meu lindo bebê Davi, que já me enche de inspiração e força pra seguir em frente. Aos meus filhos de quatro patas Bobby, Marley e Shubby, que me fazem lembrar o porquê eu escolhi essa profissão.*

*Aos meus sogros, por sempre estar ao meu lado antes, durante e depois deste experimento.*

*A todos meus familiares e amigos que de alguma maneira me trouxeram até aqui, com incentivos e palavras de bom grado.*

*Á Dra. Klena Sarges, que me acompanhou, dando-me todo o suporte necessário para que o experimento pudesse ocorrer no SACPA/IEC, e sempre me estendendo a mão quando mais precisei, orientando e aconselhando cada escolha profissional.*

*Á minha amiga Ana Thereza, sempre disposta a me auxiliar em coletas, dissertações, ou mesmo na companhia incentivadora e tão bem vinda.*

*A seção de biotérios do Instituto Evandro Chagas, por ceder seus laboratórios para esta pesquisa e a todos os funcionários da seção SACPA/IEC que me ajudaram neste experimento.*

*Ao laboratório Diagnovet pela parceria e oportunidade de processar as amostras em suas dependências. Á todos os amigos que fiz por lá, muito obrigada.*

*Ao meu orientador Moisés Hamoy, pela oportunidade e orientação nesta jornada chamada mestrado.*

## RESUMO

Foram realizadas contagens das variáveis hematológicas em onze ratos do gênero *Proechimys*, capturados *in situ* em Abaetetuba (Pará / Brasil), com o objetivo de estabelecimento de uma colônia de roedores silvestres em biotério de criação mantido no Instituto Evandro Chagas/SVS/MS. Para a determinação dos parâmetros hematológicos foi utilizado o analisador hematológico automático BC 2.800Vet, (Mindray©). A comparação estatística entre os valores dos parâmetros obtidos logo após a captura dos animais e após seis meses de adaptação em ambiente de biotério demonstrou que a maioria dos parâmetros avaliados não apresentou diferenças significativas, apenas os valores obtidos para as plaquetas. O estabelecimento de parâmetros hematológicos destes roedores auxiliará pesquisadores que estudam e investigam espécies de roedores endêmicas da Amazônia e àqueles que os utilizarão como modelos biológicos para estudos de doenças infectocontagiosas onde estes roedores participam como reservatórios.

Palavras-chave: animais silvestres, hematologia, *Proechimys*, ratos.

## ABSTRACT

Counts were made of the hematological variables in 11 mice of the genus *Proechimys*, captured in situ in Abaetetuba (Para/Brazil), with the goal of establishing a colony of wild rodents in vivarium of creation held in the Instituto Evandro Chagas/SVS/MS for the determination of haematological parameters was used the automatic Hematology Analyzer BC 2,800 Vet, (Mindray ©). The statistical comparison between the values of the parameters obtained soon after the capture of animals and after six months of adaptation in vivarium environment showed that the majority of evaluated parameters showed no significant differences, only the values obtained for platelets. The establishment of haematological parameters of these rodents will aid researchers who study and investigate species of rodent endemic to the Amazon and to those who will use as biological models for studies of infecto-contagious diseases in which these rodents participate as reservoirs.

Keywords: wild animals, hematology, rats.

**LISTA DE FIGURAS Pág.**



Figura 1. Rato <i>Proechimys</i> .....	16
Figura 2. Distribuição de algumas espécies do Gênero <i>Proechimys</i> no território brasileiro.....	17
Figura 3. Local de coleta de <i>Proechimys</i> nas regiões de Arumanduba e Guajarazinho, em Abaetetuba Pará.....	23
Figura 4. <b>A:</b> Isolamento dos animais durante 6 meses; <b>B:</b> Equipamento de EPI para a coleta <b>C:</b> Coleta intra cardíaca, <b>D:</b> Rato <i>Proechimys</i> em ambiente de biotério .....	24
Figura 5. <b>A:</b> Aparelho hematológico BC 2800Vet; <b>B:</b> Identificação da Amostra; <b>C:</b> Processamento da amostra, <b>D:</b> Tubo com EDTA contendo 0,5 ml de amostrasanguínea.....	25
Figura 6. Imagem microscópica de esfregaço sanguíneo, através de uma microgota de tubo capilar, em lâmina de vidro. Coloração através de panótico rápido. Visualização em objetiva 60x.....	26

**LISTA DE TABELAS Pág.**

Tabela 1. Classificação Taxonômica do Gênero <i>Proechimys</i> .....	16
Tabela 2. Médias de parâmetros eritrocitários obtidos de <i>Proechimys</i> na primeira coleta (após a captura) e após seis meses de adaptação em biotério de criação (n=11).....	26
Tabela 3. Médias de parâmetros plaquetários obtidos de <i>Proechimys</i> na primeira coleta (após a captura) e após seis meses de adaptação em biotério de criação(n=11).....	27
Tabela 4. Médias de parâmetros leucocitários obtidos de <i>Proechimys</i> na primeira coleta (após a captura) e após seis meses de adaptação em biotério de criação(n=11).....	28

## **LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES**

WBC : White blood cell (Leucócitos);

LYMPH: Lymphocytes(Linfócitos);

MON: Monocytes (Monócitos);

GRAN: Granulocytes (Granulócitos);

RBC: Red blood cell (Hemácia);

HGB: Hemoglobin (Hemoglobina);

HCT: Hematocrit (Hematócrito);

MCV: Globular medium volume (Volume Globular médio);

MCH: Globular médium hemoglobin (hemoglobina corpuscular média);

MCHC: Mean corpuscular hemoglobin concentration (Concentração de hemoglobina corpuscular média);

RDW: Reddistribution With (Distribuição no tamanho de hemácias);

PLT: Platlets (Plaquetas);

MPV: Mean platlets volume (Volume médio de plaquetas);

PDW: Platlets distribution whith (Distribuição Do tamanho de plaquetas);

PCT: Cell content of platlets(amplitude de distribuição das plaquetas).

NS: Não significativo

ES: Estatisticamente significativo

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
1.1. CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO ANIMAL ESTUDADO.....	14
1.2 ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS POR ESTRESSE.....	17
1.3 IMPORTÂNCIA DO PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO EM ANIMAIS PARA EXPERIMENTAÇÃO .....	18
<b>2. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>20</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>21</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
4.1 ANIMAIS E AMBIENTE DE MANUTENÇÃO.....	22
4.2 COLETA DE AMOSTRAS.....	24
4.3 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS .....	24
4.4 ESTATÍSTICA .....	26
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>29</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>31</b>
<b>ANEXOS</b>	

## 1. INTRODUÇÃO

O uso de animais na pesquisa biomédica tem importante contribuição para o progresso da medicina alcançado nos dias de hoje, mas também tem sido motivo de discussão pública, científica e filosófica por anos (FRANCO et al, 2013), entretanto a experimentação animal nas pesquisas científicas tem contribuído sobremaneira para o desenvolvimento da ciência e tecnologia, promovendo ao longo dos anos a descoberta de medidas profiláticas e tratamentos de enfermidades que acometem os seres humanos. Desta forma, animais de várias espécies têm sido utilizados nos últimos tempos, sendo os camundongos os mais utilizados e os mais conhecidos cientificamente. Embora tendências atuais preconizem a utilização de métodos alternativos (estudos *in vitro*, culturas de células, etc.), os modelos animais, como os camundongos, apresentam como principal vantagem o fornecimento de informações sobre o organismo como um todo, fato que não é conseguido com outros métodos, o que ainda possibilita o seu emprego em pesquisas científicas (CHORILLI et al, 2007).

A utilização dos roedores tem facilitado o aparecimento de novas técnicas, pois estes animais são utilizados na maior parte da pesquisa básica além de compreenderem quase 90% do total das espécies utilizadas nos laboratórios (FAGUNDES & TAHA, 2004).

A região Amazônica possui uma fauna de vertebrados e invertebrados muito diversificados e em consequência, muitas relações acontecem entre os organismos, particularmente nas relações parasito versus hospedeiro (COSTA et al, 1992). Nas florestas tropicais os pequenos mamíferos possuem um importante papel no equilíbrio do ecossistema. Os roedores, em especial, contribuem diretamente na dinâmica e na troca de energia dos ecossistemas, atuando como predadores, presas e consumidores primários, contribuindo também para a ecologia vegetal na dispersão das sementes (LIMA et al, 2001).

As pesquisas biomédicas utilizam diversas espécies de roedores já com padrão genético, e linhagens definidas, porém a vantagem da utilização experimental de roedores silvestres é a melhor abordagem do ciclo do patógeno, da maneira mais fiel àquelas condições recorrentes na natureza, avaliando melhor a patogenicidade do agente em seu respectivo ambiente natural. Este fato pode evitar a artificialidade das pesquisas que se utilizam dos modelos tradicionais. (D'ANDREA; ROQUE; TEIXEIRA, 2002). Em virtude da ética e da vantagem de criar animais para experimentação em biotérios, cada vez mais espécies foram introduzidas e passaram a ser criadas em biotérios, pois com a criação controlada estabelecem-se métodos de reprodução seguros, quantidade necessária para utilização nas pesquisas, estabelecimento de colônias com sexo e idade controlados, além de favorecer o conhecimento da biologia das espécies, assim os roedores conquistaram um lugar de destaque entre os modelos experimentais, sendo os mais utilizados até hoje, pois possuem tamanho reduzido, ciclo reprodutivo curto, são prolíferos e precoces sexualmente além de possuírem boa adaptação ao cativeiro (SANTOS, 2002).

Os roedores silvestres caracterizam-se por formarem colônias em ambientes longe do contato com o homem. Porém, devido a mudanças ambientais decorrentes da urbanização e de transformações dos ecossistemas naturais têm ocorrido grandes alterações na convivência entre animais silvestres e o homem (BRASIL, 2002).

## 1.1 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO ANIMAL ESTUDADO

No Brasil existem cerca de 58 gêneros de roedores e 165 espécies, com 37% de endemismo, que ocorre somente em território brasileiro, e este número tende a aumentar com os novos e continuados estudos sobre a diversidade da fauna, os quais vêm proporcionando contínuas descobertas de novas espécies (RODRIGUES & VAZ, 2009).

A Ordem *Rodentia* apresenta grande número de mamíferos, cerca de 2016 espécies distribuídas em 28 famílias, correspondendo 40% das espécies de mamíferos existentes (MARCIN, 2000). Os roedores do gênero *Proechimys* são conhecidos popularmente como “ratos de espinho” possuindo características muito semelhantes entre suas espécies. São indivíduos de pequeno porte com membros curtos e geralmente grandes olhos e orelhas, cauda curta ou ligeiramente maior que o comprimento da cabeça e corpo juntos (BRASIL, 2002). *Proechimys* é um gênero de roedores da família *Echimyidae*, é endêmica do Brasil, onde pode ser encontrada nos estados do Pará, Maranhão, Tocantins, Goiás e Distrito Federal. Dentre os mamíferos destaca-se por apresentar notável incongruência taxonômica, já que o número de espécies não é consenso entre os autores (WOOD et al, 2005).

Em geral, exemplares de *Proechimys* possuem pelagem dorsal de coloração variando de castanho-avermelhada a amarelada, tracejada de preto por pêlos-guarda escuros, laterais do corpo bem definida com pelagem ventral totalmente branca (BONVICINO, 2008). Esses roedores têm uma expectativa de vida curta, alimentam-se de frutas e sementes e preferem locais úmidos e perto de rios. A sua reprodução é altamente dependente da abundância e diversidade de recursos alimentares que são afetados pelas características florestais, pela degradação e pelo clima que influenciam a disponibilidade das frutas (MARCIN, 2000).

O gênero *Proechimys*, tem tamanho médio a grande, comprimento da cauda menor ou aproximadamente igual ao do corpo. Cauda frequentemente ausente devido à facilidade com que se rompe. Pelagem espinhosa devido à presença de pelos aristiformes. Coloração dorsal variando de castanho-avermelhada a amarelada, tracejada de preto por pêlos guarda-escuros. Coloração das laterais do corpo bem delimitada com a superfície ventral totalmente branca. Cauda usualmente escura na superfície superior e clara na parte inferior, coberta de pêlos curtos que não ocultam as

escamas. Orelhas largas e longas. Superfície superior das patas clara, dígitos com tufos ungueais claros. Três pares de mamas, conforme Figura 1. (Bonvivino, 2008)



**Figura 1:** Rato *Proechimys*.

Fonte: Arquivo Pessoal, 2015

O TAXONOMY NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browsei>, acessado em 13/11/2013) traz a seguinte classificação taxonômica para as espécies do Gênero *Proechimys* indicada na Tabela 1.

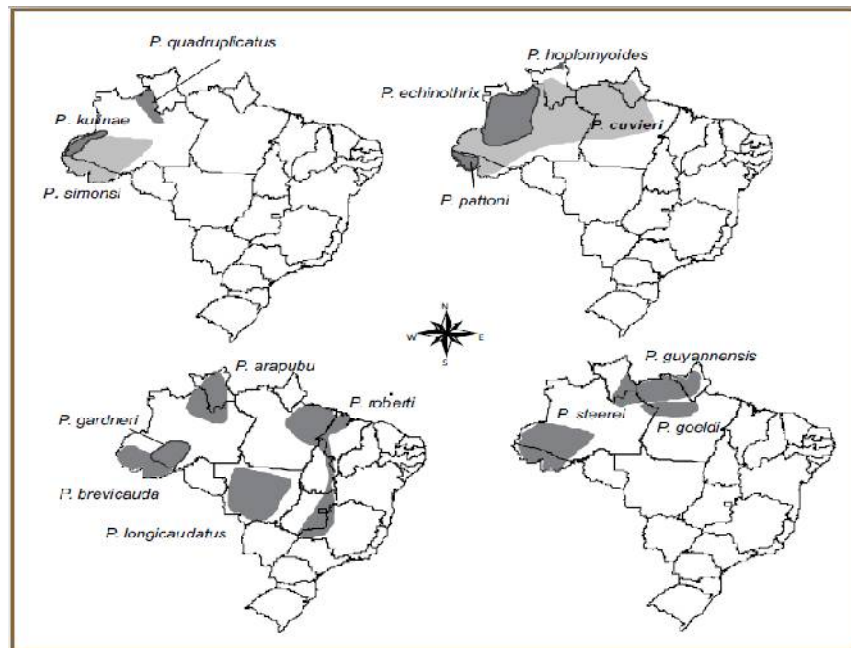
REINO	ANIMMALIA
FILO	CHORDATA
CLASSE	MAMMALIA
ORDEM	RODENTIA
FAMÍLIA	ECHYMIDAE
GÊNERO	PROECHIMYS
ESPÉCIES	<i>Cuvieri, guairae, gularis, guyannensis, hoplomyoides, longicaudatus, oris, quadruplicatus, simonsi, steerei, roberti, goeldi</i>

**Tabela 1-** Classificação Taxonômica do Gênero *Proechimys*

**Fonte:** Bonvivino, 2008



Bonvicino (2008) listou várias espécies de ocorrência no território brasileiro: *P. arabupu*, *P. breviceauda*, *P. cuvieri*, *P. echinothrix*, *P. gardneri*, *P. goeldi*, *P. guyannensis*, *P. hoplomyoides*, *P. kulinae*, *P. longicaudatus*, *P. pattoni*, *P. quadruplicatus*, *P. roberti*, *P. simonsi* e *P. steerei*, *P. roberti*. (Figura 2).



**Figura 2:** Distribuição de algumas espécies do Gênero *Proechimys* no território brasileiro

**Fonte:** Bonvicino, 2008.

## 1.2 ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS POR ESTRESSE

Quando um animal é retirado de seu habitat natural, deve-se levar em consideração o mecanismo de defesa do organismo, frente ao estresse, até que este seja domesticado. Numerosas alterações estruturais e funcionais, representam uma modificação progressiva dos mecanismos fisiológicos para permitir que o indivíduo responda ao agente estressogênico com alteração mínima da homeostasia, assim, o estresse serve para proteger o estado homeostático deste indivíduo, porém

ao mesmo tempo pode aumentar a susceptibilidade a doenças, ao passo que por si só, pode induzir alterações patológicas. A resposta do animal ao estresse é expressa por um aumento na produção e liberação de vários hormônios, neurotransmissores e eicosanoides (BISPO& PEREIRA, 1992).

As alterações imunológicas do estresse ocorrem em todas as espécies de animais e podem ser acometidas pela síndrome estressogênica, que pode provocar alterações em todos os órgãos e sistemas sendo o sistema imunológico, e o reprodutor grandemente atingido pelo estresse (HALL, et al., 1976) além de alterações no comportamento destes animais, afetando o metabolismo celular e conseqüentemente reprodução em cativeiro. Alterações em sistema cardiovascular, respiratório e digestório, podem ser exemplos da síndrome de má adaptação e como desfecho até morte aguda por estresse. O conceito de estresse baseia-se na observação de que diferentes tipos de mudanças ambientais, sejam elas externas ou internas, podem ameaçar a homeostase do organismo, acarretando um conjunto de alterações corporais: a chamada “síndrome de adaptação geral” (VIANA, M.B., <http://www.bv.fapesp.br/pt/auxilios/45919/efeitos-do-estresse-agudo-e-cronico-sobre-respostas-comportamentais-de-defesa>, acessado em 13/11/2013).

### 1.3 IMPORTÂNCIA DO PERFIL HEMATOLÓGICO EM ANIMAIS PARA EXPERIMENTAÇÃO

O hemograma é o exame de sangue mais solicitado na rotina laboratorial devido à sua praticidade, economia e utilidade na prática clínica, e consegue avaliar grau de sanidade para ambientes laboratoriais. Está dividido em três partes: 1. Eritrograma, que compreende o hematócrito, dosagem de hemoglobina e a avaliação morfológica e contagem total de eritrócitos; 2. Leucograma, composto pela avaliação morfológica e contagem total e diferencial de leucócitos; 3. Plaquetas, que se compõe de avaliação morfológica e contagem de plaquetas auxiliando a interpretação da hemostasia (LOPES et al, 2007).

Geralmente, os valores de parâmetros fisiológicos dos animais de experimentação são determinados em países com longa tradição na manutenção de biotérios. Desta forma, esses valores passam a ser admitidos como constantes para os animais de uma mesma linhagem, espalhados pelos mais diversos países (PINHEIRO et al, 1998). Apesar de cada espécie de animal possuir mecanismos próprios de controle dos valores de parâmetros fisiológicos, é sabido que podem exibir variações que estão relacionadas ao sexo, linhagem e genótipo, podendo estas variações serem decorrentes de diversos fatores como: idade, dieta, manuseio, e ambiente.

Adicionalmente, os animais experimentais podem se comportar de modo diferente, dependendo das condições a que são submetidos, sendo também passíveis de sofrerem influência de vários fatores ecológicos, característicos de cada região do planeta (WOLFORD et al, 1986).

Neste contexto, é imprescindível que cada laboratório ou biotério estabeleça um conjunto próprio de valores de referência dos animais normais controles, de acordo com a linhagem, sexo, idade de cada espécie utilizada (NEMZEK et al, 2001).

Segundo WOLFORD e colaboradores (1986), o conhecimento destes parâmetros é muito importante na pré-seleção dos animais, na avaliação e observação dos resultados obtidos nos procedimentos experimentais, assim como na análise das modificações induzidas por processos patológicos. Os parâmetros hematológicos podem variar entre linhagens e cepas diferentes de uma dada espécie e também em função do método de coleta de sangue. Desta forma, é fundamental determinar os valores de referência para animais de diferentes biotérios de acordo com a espécie, a dieta, a linhagem, o sexo e a idade (MELO et al, 2012). O presente trabalho determinou o perfil hematológico a partir de leucograma e eritrograma do gênero *Proechimys*.

## **2 JUSTIFICATIVA**

Este projeto tem por justificativa, padronizar e determinar o perfil hematológico dos animais logo após o processo de captura e avaliar as variações que ocorrem nestes parâmetros durante o processo de adaptação. Esta análise norteou as possibilidades de utilização dos animais em pesquisas como modelos experimentais viabilizando melhor compreensão das respostas fisiológicas durante o processo de adaptação.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVOGERAL

- ✓ Determinar o perfil hematológico dos animais capturados, além de avaliar o hemograma do animal logo após captura e em processo de adaptação ao novo ambiente.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar o perfil hematológico, e verificar as variações de leucograma, eritrograma e Plaquetas dos indivíduos logo após sua retirada da natureza;
- ✓ Verificar as variações entre o leucograma, eritrograma e plaquetas dos indivíduos em processo seis meses de adaptação e avaliar o grau de comprometimento do perfil hematológico.
- ✓ Descrever pela primeira vez o perfil hematológico do gênero *Proechimys* e estabelecer parâmetros para estes animais.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais do Instituto Evandro Chagas/SVS/MS (protocolo nº 025/2013). Aprovado também pelo Sistema de autorização e informação em biodiversidade (SISBIO), de nº 44480-1. Os animais são oriundos do projeto de pesquisa intitulado “ANÁLISE DA DIVERSIDADE CROMOSSÔMICA EM ESPÉCIES DE ROEDORES (MAMMALIA RODENTIA) ATRAVÉS DE PINTURA CROMOSSÔMICA”

### 4.1 ANIMAIS E AMBIENTE DE MANUTENÇÃO

QUEIROZ e colaboradores, (2008) faz alusão em sua pesquisa, sobre alguns modelos experimentais utilizados com roedores, elucidando que devido às dificuldades em acompanhar casos em humanos de malária cerebral, e a limitada possibilidade de examinar os processos patológicos, eles se utilizam de alguns diferentes modelos experimentais de roedores para estudar esta doença, este modelo é bem aceito no meio científico e a grande diversidade de linhagens de camundongos, associada à infecção por diferentes espécies de *Plasmodium falciparum* tem contribuído para elucidar aspectos envolvidos na patogênese da doença.

Os animais deste estudo foram mantidos na Seção de Criação e Produção de Animais de Laboratório (SACPA), do Instituto Evandro Chagas (IEC), instituição do Ministério da Saúde que atua nas áreas de pesquisas biomédicas relacionadas às investigações e pesquisas nas áreas de Ciências Biológicas, Meio Ambiente e Medicina Tropical e na prestação de serviços em saúde pública, objetivando ofertar modelos experimentais mais fidedignos ao estudo das doenças pesquisadas na instituição. Foram utilizados 11 exemplares de roedores do gênero *Proechymis*, capturados nas regiões de floresta conhecidas como Arumanduba e Guajarazinho no município de Abaetetuba (Pará) com as seguintes coordenadas geográficas, 1°41'13,6"S e 48°52'48,8"W respectivamente.



**Figura 3** - Local de coleta de *Proechimys* nas regiões de Arumanduba e Guajarazinho, em Abaetetuba-Pará.

**Fonte:** BARBOSA, T.A.P., 2012.

Após a captura, os animais recebidos foram microchipados e separados conforme sexo e idade em mini-isoladores para contenção biológica para ratos mantidos em isolador de máxima segurança (sala de quarentena) no biotério da Seção de Criação e Produção de Animais de Laboratório do IEC/SVS/MS, com temperatura ambiente de  $22^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa média de 80% e ciclos de iluminação de doze horas luz/doze horas escuro. Foram utilizados 6 exemplares da espécie *P.goeldi* e 5 exemplares da espécie *P.roberti*, cariotipados por meio das técnicas de Bandeamento G, segundo SEABRIGHT (1971), Bandeamento C (CBG), segundo SUMNER (1972), com modificações, e análise cromossômica. A colheita do sangue foi feita em duas fases. A primeira logo após a captura dos animais, e a segunda entre três e seis meses após a adaptação dos animais nas colônias, conforme tabelas abaixo. Os parâmetros hematológicos avaliados foram: WBC; LYMPH; MON; GRAN; RBC HGB; HCT MCV; MCH; MCHC; RDW; PLT ;MPV; PDW e PCT.

## 4.2 COLETA DE AMOSTRAS

Os animais foram sedados com associação de cloridrato de ketamina e cloridrato de xilazina nas doses de 75 mg/kg e 5 mg/kg, respectivamente, para realização de colheita de amostras de sangue. As colheitas sanguíneas foram realizadas mediante punção intracardíaca, onde foi coletado o volume máximo de 0,5mL/animal e conservada uma alíquota com EDTA.



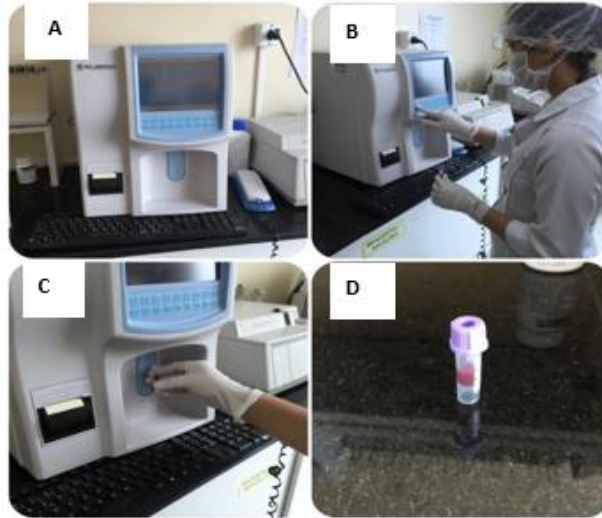
**Figura 4:** **A:** Isolamento dos animais durante 6 meses; **B:** Equipamento de EPI para a coleta **C:** Coleta intra cardíaca, **D:** Rato *Proechimys* em ambiente de biotério

**Fonte:** Arquivo pessoal, 2015

## 4.3 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS

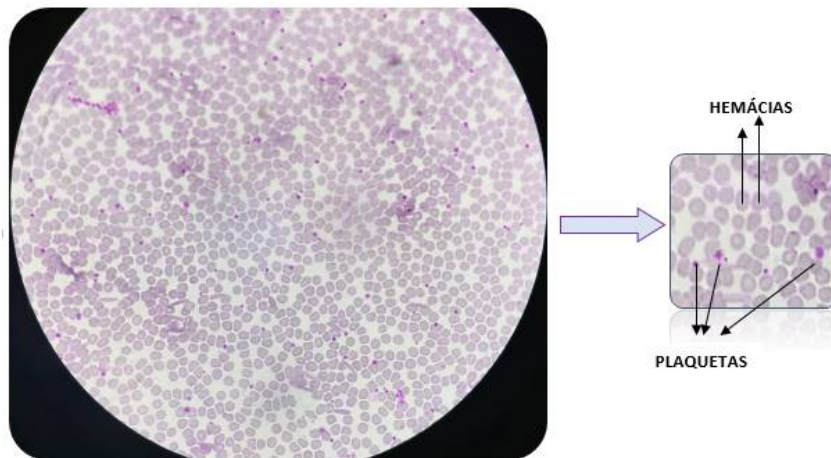
Para determinação dos parâmetros hematológicos foi utilizado o contador hematológico BC 2.800Vet, (*Mindray*©)do Laboratório Diagnovet, conforme figura 1. Parte do material coletado foi ainda enviado ao Laboratório de Citogenética do SAMAM/IEC para identificação citogenética da espécie.





**Figura 5:** A: Aparelho hematológico BC 2800Vet; B: Identificação da Amostra; C: Processamento da amostra, D: Tubo com EDTA contendo 0,5 ml de amostra sanguínea.

**Fonte:** Arquivo pessoal, 2015.



**Figura 6:** Imagem microscópica de esfregaço sanguíneo, através de uma microgota de tubo capilar, em lâmina de vidro. Coloração através de panótico rápido. Visualização em objetiva 60x.

**Fonte:** Arquivo pessoal, 2015.

#### 4.4 ESTATÍSTICA

Para análise estatística dos valores obtidos foram calculados a média e desvio padrão, além de também ter sido aplicado o teste T para correlação dos valores entre espécie, gênero e parâmetros hematológicos utilizando o teste T por meio do software PRISMA 5.0.

### 5 RESULTADOS

A comparação entre as médias, os desvios-padrões e os intervalos de confiança das variáveis hematológicas obtidas pelos métodos automatizados, através do teste t de Student estão demonstrados nas Tabelas abaixo:

**Tabela2-Médias de parâmetros eritrocitários obtidos de *Proechimys* na primeira coleta (após a captura) e após seis meses de adaptação em biotério de criação(n=11).**

	Coleta -1				Coleta -2			Teste	Resultado
	N	Média	Desvio padrão	Intervalo de confiança 95%	Média	Desvio padrão	Intervalo de confiança 95%	t-student	
RBC x10 <sup>6</sup> /μL	11	6,232	0,131	5,551 6,912	5,882	0,8072	5,34 6,424	0,25	N.S
HGB g/dL	11	14,33	2,828	12,43 16,23	14,77	1,122	13,65 15,3	0,25	N.S
HCT %	11	64,2	12,28	55,95 72,45	62,13	4,57	59,05 65,2	0,172	N.S
MCVfL	11	103,5	13,46	94,23 112,7	107,6	8,667	101,8 113,4	0,4648	N.S
MCH g/dL	11	22,93	2,393	21,32 24,53	24,9	1,767	23,71 26,09	0,3976	N.S
MCHC g/dL	11	22,25	1,173	21,47 23,04	23,22	1,131	22,46 23,98	0,25	N.S
RDW x 10 <sup>3</sup> /μL	11	16,49	0,47	16,18 16,81	16,09	0,3117	15,88 16,3	0,5	N.S

NS = Não significativo

Os valores para RBC, HGB e HCT não apresentaram alteração em sua quantidade para coleta 1 e coleta 2, mesmo após um intervalo de 6 meses de manutenção em biotério de criação. O valor de  $P=0,2500$  para os dois primeiros parâmetros e  $P=0,1720$  para o último, ou seja,  $P$  não significativo, sendo estes valores maiores que  $0,05$ .

Os valores de  $P$  para MCV, MCH e MCHC também não foram significativos, sendo os valores  $0,4648$ ;  $0,3976$  e  $0,2500$ , respectivamente. Ou seja, não significativos, apresentando então uma distribuição normal dos valores das coletas final e inicial. Neste estudo, também não houve diferença significativa entre as duas coletas (final e inicial), para RDW, visto que o valor de  $P=0,5000$  (não significativo).

**Tabela-3. Médias de parâmetros plaquetários obtidos de *Proechimys* na primeira coleta (após a captura) e após seis meses de adaptação em biotério de criação (n=11).**

	Coleta -1				Coleta -2			Teste	Resultado
	N	Média	Desvio padrão	Intervalo de confiança 95%	Média	Desvio padrão	Intervalo de confiança 95%	t-student	
PLT $\times 10^3/\mu\text{L}$	11	641	267,4	461,4 820,6	431	93,15	368,4 493,6	0,0298*	S
MPV fL	11	6,7	0,5933	6,301 7,099	6,409	0,5558	6,036 6,782	0,5	N.S
PDW	11	15,51	0,03646	15,26 15,75	13,37	0,3849	15,11 15,63	0,25	N.S
PCT %	11	0,384	0,1752	0,2664 0,5018	0,281	0,08368	0,2249 0,3373	0,5	N.S

\*ES= Estatisticamente significativo (Teste t – Student,  $p < 0,05$ ).

NS = Não significativo

O resultado de PLT, para este estudo, apresentou um valor de  $P= 0,0298$ , ou seja,  $P < 0,05$ , sendo este resultado estatisticamente significativo. Os valores de MPV, PCT e PDW não

apresentaram valor de P estatisticamente significativo, sendo iguais a 0,5000 para os dois primeiros parâmetros, e 0,2500 para o último.

**Tabela -4. Médias de parâmetros leucocitários obtidos de *Proechimys* na primeira coleta (após a captura) e após seis meses de adaptação em biotério de criação (n=11)**

	Coleta -1				Coleta -2			Teste	Resultado
	N	Média	Desvio padrão	Intervalo de confiança 95%	Média	Desvio padrão	Intervalo de confiança 95%	t-student	
WBC x103/ mm3	11	12,99	3,876	9,047 16,94	14,76	1,765	12,87 16,58	0,5	N.S
LYMPH x103/ mm3	11	7,891	3,293	5,686 10,1	8,18	2,54	6,707 10,13	0,1871	N.S
MON x103/ mm3	11	0,427	0,1849	0,3031 0,5515	0,573	0,1	0,5049 0,6405	0,5	N.S
GRANx103/ mm3	11	5,6	3,17	3,47 7,73	5,773	1,24	4,937 6,608	0,25	N.S

NS = Não significativo

O resultado de WBC não foi estatisticamente significativo, visto que o valor de  $P = 0,5000$  foi maior que 0,05. Os valores de LYMPH, MON e GRAN foram de  $P = 0,1871$ ,  $P = 0,5000$  e  $P = 0,2500$  respectivamente, caracterizando  $P > 0,05$ , ou seja, não significativos. Todos os parâmetros, com exceção das plaquetas ( $p < 0,05$ ,  $n = 11$ ), não apresentaram diferenças significativas em relação às metodologias empregadas neste trabalho.

## 6 DISCUSSÃO

As plaquetas (PLT) ou também denominadas trombócitos são fragmentos celulares que se formam na medula óssea vermelha, a partir da fragmentação do citoplasma de glóbulos brancos gigantes, denominados megacariócitos, protegendo o organismo contra uma perda excessiva de sangue, se fixando nas áreas onde os vasos foram lesionados e liberando a serotonina contida em seus grânulos citoplasmáticos. Assim os vasos sanguíneos são retraídos (vasoconstrição), por causa da serotonina, e ocorre diminuição da perda de sangue (MICHELSON, 1996).

As variações encontradas paravalores de plaquetas no período de recepção dos animais e pós-adaptativo podem estar relacionadas, ao método de contagem, pois para este parâmetro são realizadas contagem manual e contagem automática por sistemas ópticos e/ou de variação de impedância, os quais aumentam a precisão e minimizam o fator de erro em situações extremas, permitindo ainda avaliar as variações na forma e no tamanho das plaquetas, além de detectar a presença de agregados (SEGAL et al, 2005).

Neste estudo foi levado em consideração para leitura, somente o método automático. Vale ressaltar, que existe uma tendência de todos os analisadores automáticos em superestimar a contagem de plaquetas, resultando em pouca sensibilidade a níveis abaixo do limite de normalidade (TASKER et al, 2001)

Estudo realizado objetivando discriminar parâmetros hematológicos para ratos Wistar, utilizando os métodos automático e Fonio, também encontrou variação nos valores para plaquetas em doze indivíduos estudados (MESSIAS et al, 2009)

A hematologia é uma importante área de estudo sobre o estado de saúde dos animais, sendo o hemograma um dos métodos de avaliação de diagnóstico e prognóstico de enfermidades (SWENSON, 1988; JAIN et al, 1993).

## 7. CONCLUSÃO

A publicação de dados sobre os parâmetros hematológicos de uma espécie beneficiam a avaliação de sua sanidade em cativeiro e *in situ*. Não há parâmetros hematológicos publicados para nenhuma espécie deste gênero de roedores, deste modo a pesquisa segue com importante valor informativo para pesquisadores que estudam e investigam espécies de roedores endêmicas da Amazônia.

Pode-se concluir também que os animais do estudo aceitaram bem a manutenção em cativeiro. Os animais deste estudo foram capturados com o objetivo de iniciar criação em cativeiro de animais deste gênero para posterior utilização destes animais em pesquisas biomédicas relacionadas ao estudo de agentes parasitários e infecciosos presentes na região Amazônica.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, T.A.P. **Aspectos ecológicos do bacu-pedra *Lithodoras dorsalis* (valenciennes, 1840) (siluriformes: *doradidae*) na foz amazônica, Brasil.** Tese (Mestrado em Zoologia, do Convênio Museu Paraense Emílio Goeldi e UFPA), Belém- PA, 2012.

BISPO, D. L. N. e Pereira, O. C. M. (1992): **Involvement of swimming-induced acute stress in the sensitive of rat with reference to norepinephrine.** Gen. Pharmac., v. 23, Nº 6, p. 1125-1128.

BISPO, D. L. N. e Pereira, O. C. M. (1994): **Importância do Conhecimento das Alterações Induzidas pelo estresse, em animais domésticos.** Interciência 19(2): 72-74.

BONVICINO, C.R., OLIVEIRA J.A., D'ANDREA P.S. **Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos.** Riode Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS, 2008.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de controle de roedores.** Brasília: Ministério da Saúde, Brasília: M.S., 132p. 2002.

CHORILLI, D. C. MICHELIN, H. R.N. SALGADO **Animais de laboratório: o camundongo.** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, Vol. 28, No 1, 2007.

COSTA, A.L., FACCINI, J.LH., LEITE, R.C. **Especificidade parasitária das espécies de Raillietia trouessart (Acari: Gamasida) parasita de bovinos.** Revista Brasileira de Zoologia, Vet., 1 (2): 111-112, 1992.

D'ANDREA, P.S.; ROQUE, A.L.R.; TEIXEIRA, B.R. **Alternativas para Animais de Laboratório: uso de animais de não-convencionais – roedores silvestres.** In: Andrade, A. Animais de Laboratório. Criação e Experimentação. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. 388p.

FAGUNDES, D.J., TAHA, M.O. **Modelo animal de doença: critério de escolha e espécies de animais de uso corrente.** Acta CirBras, 2004.

FRANCON. H. **Animal Experiments in Biomedical Research: A Historical Perspective** Institute for Molecular and Cell Biology. Animals 2013, N° 3, p. 238-273. 2013

HALL, G. M., Bendall, J. R. *et al.* (1976): **Porcine malignant hyperthermia 11: heat production.** Br, J, Anaesth. 48: 305-308.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology.** 4. ed. Philadelphia: Lea &Febiger, 407p. 1993.

LIMA, M., JULLIARD, R., STENSETH, N.C., JAKSIC, F.M. **Demographic Dynamics of a neotropical small rodent (Phylotis darwini): feed back structure, predation and climatic factors.** Journal of Animal Ecology, 70:761 - 775. 2001.

LOPES, BIONDO E SANTOS. **Manual de Patologia Clínica Veterinária,** centro de ciências rurais universidade federal de Santa Maria, RS, CEP. 97105-900. 2007.



MARCIN, R. **Comparative cranial anatomy of *Rattus norvegicus* and *Proechimys trinitatus*.**

Dissertação de mestrado. University of New York, 2000.

MESSIAS, J.B.; CARACIOLO, M.C.M.; OLIVEIRA, I.M.; MONTARROYOS, U.R.; GUERRA, M.O.; SOUZA, I.A. **Parâmetros hematológicos de *Rattus norvegicus* obtidos através de método automatizado e não automatizado.** Medicina Veterinária, Recife, v.3, n.2, p.1-8, abr-jun, 2009.

MELO, M. G. D., et al., **Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe.** Scientia Plena, v. 8, n. 9, 2012.

MICHELSON, A.D. **Flow Citometry: a clinical test of platelet function.** Blood, v.87, n.12, p.4925-4936, 1996.

NEMZEK, J.A. et al. **Differences in normal values for murine white blood cell counts and other hematological parameters based on sampling site.** Inflamm. Res., Basel, v. 50, p. 523-527, 2001

PINHEIRO, D.C.S.N., et al. **Parâmetros Hematológicos de Camundongos e ratos do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará.** Vol1. Inf. Cobeia, São Paulo, n. 3, p. 6-9, 1997/98.

QUEIROZ, N.L., TEIXEIRA, M. M., TEIXEIRA, A. L. **Imunopatogênese da malária Cerebral.** Revista Brasileira de Neurologia, vol.44, n 1; p.13-19. 2008

PARESQUE, R. **Diversificação das espécies do gênero *Oligoryzomys* Bangs, 1900 (Rodentia, cricetidae) na região neotropical.** Tese (Doutorado em Genética/Instituto de Biociência/Biologia) São Paulo, Universidade da USP, 2010.

RODRIGUES, A. L. & VAS, V.C.A. **Roedores.** Rio de Janeiro, Brasil. Disponível em <<http://www.geocities.com/RainForest/Wetlands/4710/roedores.html>> acessado em: 13/11/2013.

SANTOS, B.F. Modelo Animal. In: **Animais de Laboratório. Criação e Experimentação.** Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. 388p.

SEABRIGHT M. 1971. **A rapid banding technique for human chromosomes.** Lancet 2:971-972.

SEGAL, H.C. et al. **Accuracy of platelet counting haematology analysers in severe thrombocytopenia and potential impact on platelet transfusion.** British Journal of Haematology, v.128, n.4, p.520-525, 2005.

SUMNER, AT. 1972. **A simple technique for demonstrating centomeric heterochromatin.** Exp. Cell Res. 75: 304-6.

SWENSON, M.J. **Propriedades fisiológicas e constituintes celulares e químicos do sangue.** In: Fisiologia dos animais domésticos. 10. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.13-25, 1988.

TAXONOMY NCBI *Proechimys*, <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>>, acessado em 13/11/2013.

TASKER, S. et al. **Evaluation of methods of platelet counting in the cat.** Journal of Small Animal Practice, v.42, n.7, p.326-332, 2001.

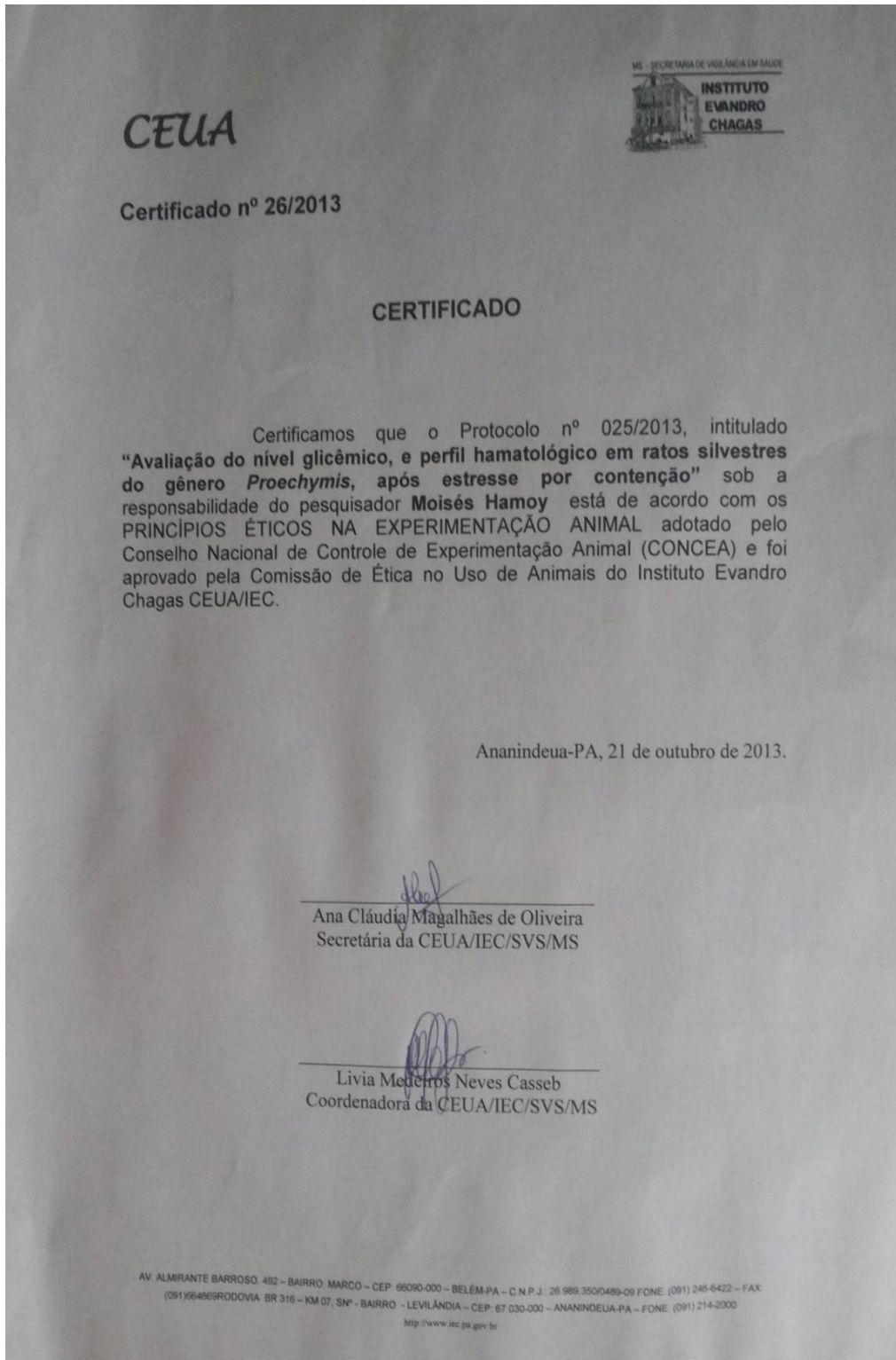
VIANA, M.B. **Efeitos do estresse agudo e crônico sobre respostas comportamentais de defesa**, São Paulo 2013. Disponível em < <http://www.bv.fapesp.br/pt/auxilios/45919/efeitos-do-estresse-agudo-e-cronico-sobre-respostas-comportamentais-de-defesa>>, acessado em 13/11/2013.

WOODS, C. A.; KILPATRICK, C. W. *Infraorder Hystricognathi*. In: WILSON, D. E.; REEDER, D. M. (Eds.). **Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference**. 3. ed. Baltimore: John Hopkins University Press, 2005. v. 2, p. 1538-1600.

WOLFORD, S.T. et al. **Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals**. J. Toxicol. Health, Washington, D.C., v. 18, p. 161-188, 1986.

ANEXO 1

Aprovação do Comitê de Ética IEC



## ANEXO 2

## Solicitação de Autorização IBAMA



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

<b>Número:</b> 44480-1	<b>Data da Emissão:</b> 25/06/2014 14:30	<b>Data para Revalidação*:</b> 25/07/2015
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: EDIVALDO HERCULANO CORREA DE OLIVEIRA	CPF: 318.888.012-04
Título do Projeto: Estudos Cromossômicos em Roedores do Estado do Pará	
Nome da Instituição : Instituto Evandro Chagas	CNPJ: 00.394.544/0025-52

#### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	COLETA DE AMOSTRAS	07/2014	06/2017
2	PROCESSAMENTO, OBTENÇÃO DE CROMOSSOMOS	07/2014	03/2017
3	ANÁLISE CITOGENÉTICA CLÁSSICA	11/2014	01/2018

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/cgen">www.mma.gov.br/cgen</a> .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

#### Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Anderson José Baia Gomes	PESQUISADOR	845.462.632-87	4992155 P. CIVIL-PA	Brasileira

#### Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	ABAETETUBA	PA	ARREDORES DA ÁREA URBANA	Fora de UC Federal
2	BELEM	PA	ARREDORES DA ÁREA URBANA	Fora de UC Federal
3	ANANINDEUA	PA	ARREDORES DA ÁREA URBANA	Fora de UC Federal

#### Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
---	-----------	--------

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

**Código de autenticação: 2666887**



Página 1/3