

INTERVALOS DE REFERÊNCIA DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DO MORCEGO INSETÍVORO *TADARIDA BRASILIENSIS*

Paulo Quadros de Menezes¹; Thassiane Targino da Silva²; Ives Feitosa²; Camila Conte³; Paulo Mota Bandarra²; Ana Maria Rui¹

¹ Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, DEZG/ IB, Universidade Federal de Pelotas – pauloquadros.vet@gmail.com; ana.rui@ufpel.edu.br

² Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre – thassiane.vet@gmail.com; ivesfeitosa@gmail.com; bandarra.ufpel@gmail.com

³ Laboratório de Patologia Clínica, Universidade Federal de Pelotas – camilaconte2@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Análises hematológicas são importantes ferramentas na medicina humana e animal dando suporte para o diagnóstico de doenças e decisões sobre tratamentos (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007). A interpretação dos resultados destas análises é realizada por comparação e depende do estabelecimento de intervalos de valores considerados normais para uma população ou espécie, os chamados Intervalos de Referência (IR). O estabelecimento de Intervalos de Referência (IR) hematológicos é uma ferramenta importante para avaliar a saúde dos animais e compreender o impacto de doenças nos níveis individual e populacional (FRIEDRICH et al., 2012).

Os morcegos são uma importante ordem de mamíferos devido a sua ampla distribuição geográfica, grande número de espécies, abundância e prestação de serviços ecossistêmicos (FENTON; RATCLIFFE, 2010). Além disso, os morcegos são importantes reservatórios de cerca de 200 diferentes tipos de vírus, incluindo o vírus da raiva (CALISHER et al., 2006) e bactérias potencialmente patogênicas (CLAUDIO et al. 2018). Desta forma, a avaliação da saúde de indivíduos e o monitoramento de populações são essenciais e podem auxiliar na conservação e manejo de populações e espécies e na detecção e controle de zoonoses de uma forma rápida e precoce.

O objetivo do presente trabalho foi estabelecer pela primeira vez os Intervalos de Referência (IR) para 12 parâmetros hematológicos de uma espécie da família Molossidae, o morcego insetívoro *Tadarida brasiliensis*. Foram avaliados o número total de hemácias ($\times 10^6$), teor de hemoglobina (g/dl), hematócrito (%), volume corpuscular médio (VCM) (fl), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (%), contagem plaquetária ($\times 10^3$), leucócitos totais (μ l), contagem diferencial de leucócitos (μ l) e proteínas plasmáticas totais (g/dl).

2. METODOLOGIA

Um total de 139 indivíduos adultos de ambos os sexos de *T. brasiliensis* foram capturados em dois prédios situados no Campus Capão do Leão da UFPel, no município de Capão do Leão (RS) (31°48'02"S 52°24'51"W), com auxílio de redes de neblina ou armadilhas de harpa. As capturas foram realizadas entre o outono de 2019 e o verão de 2020.

As amostras de sangue foram colhidas através da veia femoral. A punção foi feita utilizando-se seringas de insulina de 100UI preparadas com etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e o sangue foi acondicionado em tubos

Eppendorfs® sem anticoagulante. A contagem das células foi realizada em automação hematológica veterinária poCH – 100iV Diff®. A contagem diferencial leucocitária foi analisada através de microscopia óptica em esfregaço sanguíneo corado com o kit Panótico Rápido®. O valor das proteínas plasmáticas totais foi obtido do plasma em aparelho refratômetro analógico RHO-90 Brix®, após centrifugação da amostra em tubo capilar.

As análises foram realizadas no programa estatístico Reference Value Advisor v.2.1 no ambiente Microsoft Excel 2010 for Windows. Os doze parâmetros hematológicos estudados foram analisados quanto a estatística descritiva e foram calculadas as médias e seus desvios padrões, medianas e valores máximos e mínimos. A determinação do IR e dos Intervalos de Confiança (CI) foi realizada com a utilização de métodos recomendados pela American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP) (FRIEDRICH et al., 2012).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para os 12 parâmetros hematológicos, incluído a estatística descritiva dos dados brutos, os cálculos dos Intervalos de Referência (IR) e os Intervalos de Confiança (IC) de 90% para o limite inferior e superior do IR estão sintetizados na Tabela 1.

Tabela 1: Estatística descritiva, Intervalos de Referência (IR) e Intervalos de Confiança (IC) de 12 parâmetros hematológicos do morcego *Tadarida brasiliensis* capturados entre abril de 2019 e março de 2020, no município de Capão do Leão (RS), extremo sul do Brasil.

Parâmetros Hematológicos	N	M ± DP	Med	Mín-Máx	RI	90% CI para LL	90% CI para UL
Hemácias ($\times 10^6$) ²	119	10,1 ± 2,5	10,4	3,13 - 14,88	4,2 - 14,2	2,9 - 5,3	13,7 - 14,6
Hemoglobina (g/dl) ^{1,2}	119	11,5 ± 2,5	12,0	3,9 - 16,4	5,4 - 15,6	4,2 - 6,6	15,2 - 16,0
Hematócrito (%) ²	119	38,3 ± 9,7	39,9	11,5 - 56,9	16,6 - 55,2	12,7 - 20,2	53,4 - 56,8
VCM (fl) ¹	117	38,1 ± 1,6	38,2	33,6 - 42	34,6 - 40,9	33,9 - 35,1	40,6 - 41,2
CHCM (%) ³	117	30,1 ± 1,5	29,8	27,1 - 35,4	27,7 - 34,5	27,1 - 28,1	33,4 - 35,4
PPT(g/dl) ³	70	6,2 ± 0,3	6,2	5,2 - 7,0	5,5 - 7,0	5,2 - 5,8	6,8 - 7,0
Plaquetas ($\times 10^3$) ³	139	2687,8 ± 1821,8	2307,0	282 - 9605	679,0-8041,5	282,0 - 791,0	6517,0-9605,0
Leucócitos Totais (μ l) ¹	96	1932,1 ± 1000,5	1800,0	500 - 4800	500,7-4383,9	426,9 - 601,7	3898,3-4918,3
Neutrófilos (μ l) ²	84	942,4 ± 578,6	756,0	100 - 2745	116,8-2315,8	ND - 169,4	1984,8-2584,6
Linfócitos (μ l) ²	86	1000,2 ± 666,9	866,0	126 - 3111	173,4 - 2697,5	137,5 - 218,6	2257,0 - 3166,0
Eosinófilos (μ l) ³	85	204,1 ± 189,6	145,0	0 - 817	0,0 - 691,6	0,0 - 0,0	603,9 - 817,0
Monócitos (μ l) ³	86	13,1 ± 47,5	0,0	0 - 392	0,0 - 130,4	0,0 - 0,0	54,6 - 392,0

N: número de indivíduos; M: média; DP: desvio padrão; Med: mediana; Mín-Máx: valores mínimos e máximos; IR: intervalo de referência; 90% IC para LL: 90% do intervalo de confiança (IC) para o limite inferior do IR; 90% IC para UL: 90% do intervalo de confiança (IC) para o limite superior do IR; ND: não determinado devido ao tamanho pequeno da amostra (o valor mínimo pode ser usado como limite do intervalo de confiança). Método Utilizado para obtenção do IR e IC: 1. Box Cox Standart; 2. Box Cox Robust; 3. Não Paramétrico.

O IR obtido para hemácias, hemoglobina e hematócrito de *T. brasiliensis* apresentou valores mais baixos e com intervalo mais amplo do que o relatado para espécies de outras famílias de morcegos. Essas diferenças foram constatadas quando se compara a espécie com morcegos frugívoros da família Pteropodidae, como *Eidolon helvum* (SELIG et al., 2016), morcegos hematófagos

da família Phyllostomidae, como *Desmodus rotundus* (SANTOS et al., 2007), morcegos insetívoros da família Vespertilionidae, como *Miniopterus schreibersii* (HOTZ et al., 2020). As informações sobre hematócrito de espécies de *Molossus molossus* e *Molossus bondae* indicam que outras espécies de Molossidae podem não seguir o mesmo padrão hematimétrico de *T. brasiliensis* (RODRÍGUEZ-DURÁN; PADILLA-RODRÍGUEZ, 2008).

O IR obtido para VCM e CHCM de *T. brasiliensis* apresentou valores mais elevados e com menor variação do que o relatado para o morcego Vespertilionidae, *M. schreibersii* (HOTZ et al., 2020) e uma espécie de morcegos da família Phyllostomidae, *Desmodus rotundus* (SANTOS et al., 2007). Em contrapartida, O IR obtido para CHCM de *T. brasiliensis* mostrou-se mais baixo e com variação comparável à espécie da família Pteropodidae, *E. helvum* (SELIG et al., 2016). Os morcegos tendem a possuir valores maiores ou mais variáveis de hemoglobina, hemácias, hematócrito, VCM e CHCM que a maioria dos mamíferos, devido à alta necessidade de oxigênio para deslocamento por meio do voo (RASKIN; WARDROP, 2011).

O IR obtido para leucócitos totais de *T. brasiliensis* apresentou valores mais baixos e com intervalo menos amplo do que relatado para espécies de outras famílias de morcegos. Essas diferenças são observadas ao se comparar a espécie com morcegos Pteropodidae, como *E. helvum* (SELIG et al., 2016), morcegos Phyllostomidae, como *D. rotundus* (SANTOS et al., 2007) e morcegos insetívoros Vespertilionidae, como *M. schreibersii* (HOTZ et al., 2020).

Os IRs obtidos para contagem diferencial de leucócitos de *T. brasiliensis* apresentaram intervalos menos amplos do que os relatados para espécies de morcegos Pteropodidae, como *E. helvum* e *P. poliocephalus* (SELIG et al., 2016; EDSON et al., 2018), morcegos Phyllostomidae, como *D. rotundus* (SANTOS et al., 2007), morcegos Vespertilionidae, como *M. schreibersii* e *M. daubentonii* (HOTZ et al., 2020). As informações sobre os leucócitos diferenciais para *M. bondae* (SCHINNERL et al., 2011) indicam que outras espécies de Molossidae não seguem o mesmo padrão leucocitário de *T. brasiliensis*.

Os resultados demonstram que *T. brasiliensis* tem predominância de leucócitos do tipo linfócito, da mesma maneira que morcegos Vespertilionidae, como *M. schreibersii* (HOTZ et al., 2020), enquanto morcegos Phyllostomidae, como *D. rotundus* (SANTOS et al., 2007) e Pteropodidae, como *E. helvum* (SELIG et al., 2016) possuem uma maior proporção de neutrófilos.

O IR obtido para plaquetas de *T. brasiliensis* apresentou valores mais elevados e com intervalo mais amplo do que relatado para morcegos da família Pteropodidae, a exemplo das espécies *E. helvum* (SELIG et al., 2016) e *Pteropus poliocephalus* (EDSON et al., 2018). *Tadarida brasiliensis* apresentou valores médios para PPT mais baixos quando comparados a espécies de morcegos fitófagos da família Pteropodidae, como *Pteropus conspicillatus* (MCMICHAEL et al., 2019) e morcegos Phyllostomidae, como *D. rotundus* (SANTOS et al., 2007).

4. CONCLUSÕES

Os resultados desse trabalho serão úteis para monitorar a saúde de indivíduos e da população de *T. brasiliensis*, que é uma espécie que vive em proximidade com humanos e animais domésticos, abrigando-se em construções, e que pode albergar diversos agentes patogênicos. O estabelecimento de Intervalos de Referência para *T. brasiliensis*, além de uma importante ferramenta sanitária, ainda pode ser útil em tomadas de decisões relacionadas ao seu manejo e conservação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMOSNY, N. R. P.; MONTEIRO, A. O. Patologia Clínica. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens**. 1ed, São Paulo, Roca, p.939-966, 2007.
- CALISHER, C.H.; JAMES, E.C.; FIELD, H.E.; HOLMES, K.V.; SCHOUNTZ, T. Bats: Important Reservoir Hosts of Emerging Viruses. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 3, p. 531–545, 2006.
- CLAUDIO, V.C.; GONZALEZ, I.; BARBOSA, G.; ROCHA, V.; MORATELLI, R.; RASSY, F. Bacteria richness and antibiotic-resistance in bats from a protected area in the Atlantic Forest of Southeastern Brazil. **PLoS ONE**, v.13, n. 9, p.1-18, 2018.
- EDSON, D.; FIELD, H.; MCMICHAEL, L.; MAYER, D.; MARTIN, J.; WELBERGEN, J.; MCLAUGHLIN, A.; HUTH, L.; KRISTOFFERSEN, J.; TSOUKALAS, G.; KIRKLAND, P. Hematology, plasma biochemistry, and urinalysis of free-ranging grey-headed flying foxes (*Pteropus poliocephalus*) in Australia. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.49, n.3, p.591–598, 2018.
- FENTON, M.B.; RATCLIFFE, J.M. Quick guide: Bats. **Current Biology**, v. 20, n. 24, p.1060-1062.
- FRIEDRICH, K. R.; HARR, K. E.; FREEMAN, K. P.; SZLADOVITS, B.; WALTON, R. M.; BARNHART, K. F.; BLANCO-CHAVEZ, J. ASVCP Reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. **Veterinary Clinical Pathology**, v.41, n.4, p.441-453, 2012.
- HOLZ, P.H.; CLARK, P.; MCLELLAND, D.J.; LUMSDEN, L.F.; HUFSCHEID, J. Haematology of southern bent-winged bats. **Clinical Pathology**, v.29, p.231–237, 2020.
- MCMICHAEL, L.; EDSON, D.; MCKEOWN, A.; SANCHEZ, C.; MAYER, D.; KOPP, S.; MEERS, J.; FIELD, H. Hematology and Plasma Biochemistry of Wild Spectacled Flying Foxes (*Pteropus conspicillatus*) in Australia. **Journal of Wildlife Diseases**, v.55, n.2, p. 449–454, 2019.
- RASKIN, R.E.; WARDROP, K.J. Species specific hematology. In: WEISS D.J. Y K.J., WARDROP. **Schalm's veterinary hematology**. John Wiley & Sons. Minnesota, p.799-957, 2011.
- RODRÍGUEZ-DURÁN, A.; PADILLA-RODRÍGUEZ, E. Blood Characteristics, Heart Mass, and Wing Morphology of Antillean Bats. **Caribbean Journal of Science**, vol. 44, n.3, p.375-379, 2008.
- SANTOS, A.P.; MOTIN, V.D.; HERMANN, G.P. Valores hematológicos de morcegos hematófagos (*desmodus rotundus*) no sul do Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 35, n 1, p.55-58, 2007.
- SELIG, M.; LEWANDOWSKI, A.; KENT, M.S. Establishment of reference intervals for hematology and biochemistry analytes in a captive colony of Straw-Colored Fruit Bats (*Eidolon Helvum*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.47, n.1, p.106–112, 2016.
- SCHINNERL, M.; AYDINONAT, D.; SCHWARZENBERGER, F.; VOIGT, C.C. Hematological Survey of Common Neotropical Bat Species from Costa Rica. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.42, n.3, p.382-391, 2011.