

LIDIANY DE SOUZA ARAÚJO

**ACROMIA CUTÂNEA EM SERPENTES *Crotalus durissus cascavella*
MANTIDAS EM CATIVEIRO**

RECIFE, 2006

LIDIANY DE SOUZA ARAÚJO

**ACROMIA CUTÂNEA EM SERPENTES *Crotalus durissus cascavella*
MANTIDAS EM CATIVEIRO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Biologia Animal do Departamento de Zoologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos básicos para obtenção do grau de Mestra em Biologia Animal.

Orientadora: Prof^a Dra. Míriam Guarnieri
Co-orientador: Prof Dr. Luiz Carlos Alves

RECIFE, 2006

Araújo, Lidianny de Souza
Acromia cutânea em serpentes *Crotalus durissus*
***cascaVELla* mantidas em cativeiro / Lidianny de Souza**
Araújo. – Recife : O Autor, 2006.
xvii, 81 folhas : il., fig., fotos, tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de
Pernambuco. CCB. Biologia animal, 2006.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Serpente - Cascavel - Acromia. 2. Cobra
cascaVEL. I. Título.

597.9638
598.126

CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)

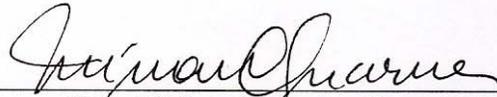
UFPE
BC2006-215

BANCA EXAMINADORA

Lidiany de Souza Araújo

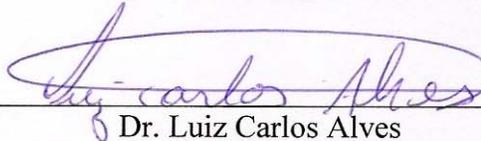
Acromia Cutânea em Serpentes *Crotalus durissus cascavella* Mantidas em Cativeiro

Orientadora:



Dra. Míriam Camargo Guarnieri
Depto. de Zoologia/ UFPE

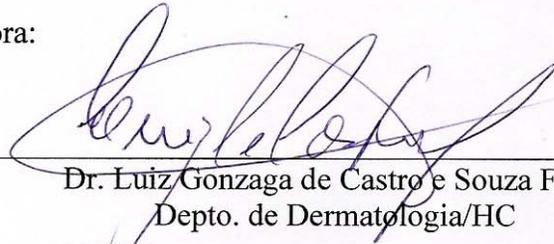
Co-Orientador:



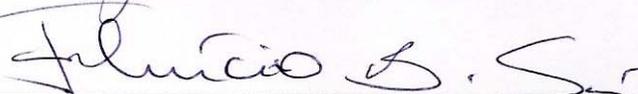
Dr. Luiz Carlos Alves
Depto. de Biologia Celular e Ultra-estrutura/CPqAM

Banca Examinadora:

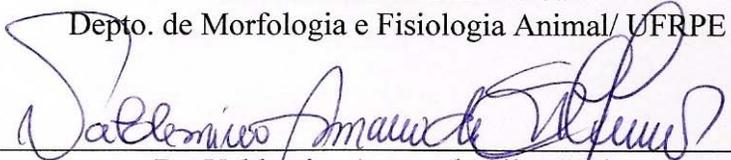
Titulares:



Dr. Luiz Gonzaga de Castro e Souza Filho
Depto. de Dermatologia/HC

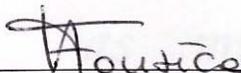


Dr. Fabrício Bezerra de Sá
Depto. de Morfologia e Fisiologia Animal/ UFRPE

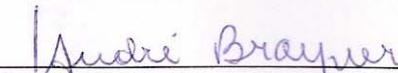


Dr. Valdemiro Amaro da Silva Júnior
Depto. de Morfologia e Fisiologia Animal/Área de Histologia / UFRPE

Suplentes:



Dra. Verônica Genevois Fonseca
Depto. de Zoologia/UFPE



Dr. Fábio André Brayner dos Santos
Depto. de Biologia Celular e Ultra-estrutura/CPqAM

“Instruir-te-ei e ensinar-te-ei o caminho que deves seguir e sob as minhas vistas te darei conselho.”

SL 32:8

Dedico este trabalho a Deus, o Único digno de toda honra, glória e louvor para sempre.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Maior Orientador e Dono da minha vida, ao Senhor Deus que em todas as coisas, desde o princípio, me direcionou e supriu todas as minhas necessidades para realizar esta pesquisa. A Ele que por sua imensa bondade e carinho não me deixou desistir e sempre me deu forças para continuar a procurar as respostas e desvendar o desconhecido. A meu Pai Eterno que dia a dia tem revelado seu amor para comigo através de pessoas tão queridas, preciosas e fundamentais que Ele pôs em minha vida.

À minha mais que orientadora Miriam Camargo Guarnieri, meus eternos agradecimentos por me ajudar a tornar-me uma pesquisadora, por sempre me fazer ir além e me mostrar o quanto posso sempre melhorar. A minha querida amiga e irmã em Cristo, por ser um instrumento de Deus nunca permitindo que perdesse de vista o real propósito desta pesquisa e por me ensinar que o mais importante é SEMPRE SUBMETER TUDO AO SENHOR.

A Luiz Carlos Alves, meu querido co-orientador por ter aceitado este desafio e por ter feito isto com disposição, prontidão, dedicação e apoio. A um amigo espontâneo que desempenhou um papel fundamental para realização deste trabalho e por ter me emprestado tantas vezes seus ouvidos mostrando que orientar também é saber ouvir.

Ao meu amado noivo Cristiano Linhares, sem o qual eu não teria conseguido concluir esta pesquisa, por toda sua compreensão, companheirismo e incentivo, por me fortalecer com seu carinho e amizade, por tantas vezes ter carregado minhas cargas quando já não agüentava mais, por ser um oásis no meu deserto, por me fazer viver que **É BEM MELHOR SEREM DOIS DO QUE UM.**

Ao meu pai Sadrack, por sempre ter me incentivado a estudar, não apenas com palavras mais com as conquistas que teve em sua própria vida, por se esforçar em me dar sempre condições melhores pra isto, por sempre me apoiar e por estar sempre disponível quando precisei de ajuda com tudo que diz respeito a esta pesquisa. A minha querida mãe Lidinei, que sempre teve tanta paciência para responder os meus infindáveis porquês quando buscava saber as respostas para as perguntas da vida, por nunca ter me reprimido quando questionada, por cultivar em mim a necessidade do saber e por deixar acesa a chama da pesquisa sem nunca imaginar que esta seria minha profissão.

Ao meu querido irmão Sadrack Júnior por todo zelo e por sempre querer o melhor pra mim.

A minha querida e preciosa vovó Lia, por ser como uma guardiã da minha vida com suas infindáveis orações e por sempre me aconselhar a fazer o que é certo.

Aos meus pastores Elecir Brito e João Vitor, por demonstrarem tanto carinho e amizade com seus sorrisos, abraços, ligações e orações, quando me perguntavam sobre como estão às coisas e por sempre me aconselharem como devo seguir. Agradecer a estes ministros de Deus por me ajudarem a perceber minhas limitações, ensinando-me que mesmo sendo difícil, o renunciar às vezes é necessário e que O OBEDECER É MELHOR DO QUE O SACRIFICAR.

A todos os componentes do Ministério Talentos que se tornaram como uma grande família pra mim, com os quais aprendi a compartilhar minhas lutas e a desfrutar do sabor das vitórias.

A todos do LAPTx por me ajudarem na arte de relacionar-se e no desenvolvimento desta pesquisa, por terem estado sempre comigo quando precisei de ajuda e por agüentarem a “agradável temperatura do serpentário” durante as coletas macroscópicas tegumentares das serpentes.

A professora Eduarda Larrazabal, excelente coordenadora, e a melhor secretária do mundo Ana Elisabete por sempre serem tão atenciosas e prestativas em me atenderem e a me ajudarem a concluir este estudo.

A todos os professores e colegas da turma 2004 do Mestrado em Biologia Animal por me ajudarem em minha formação profissional e por todo seu companheirismo, amizade e sugestões.

Ao professor Luiz Gonzaga por ter me ajudado nos primeiros passos deste estudo, disponibilizando sua literatura, tempo e as ferramentas necessárias para realização dos testes.

As Doutoradas Isolda e Mônica Cavalcanti do Laboratório de Sorologia do Hospital das Clínicas por terem me ajudado a ampliar os meus conhecimentos e a realizar uma das etapas desta pesquisa.

Aos competentes veterinários Fabrício e Sérgio por me darem assistência sempre quando necessário.

A todos da equipe do Laboratório de Microscopia Eletrônica do LIKA por me ajudarem na preparação dos materiais e demonstrarem tanto carinho por mim. A Raimundo do Laboratório de Imagens do Instituto Ageu Magalhães por toda a sua disposição e paciência. As queridas bibliotecárias Virgínia Mariz e Mácia Saturnino do Instituto Ageu Magalhães por sempre me atenderem e tratarem com tanta gentileza.

Ao Professor Geovani do Laboratório de Virologia do Instituto Ageu Magalhães, por dispor-se a esclarecer minhas dúvidas.

A CAPES pelo apoio financeiro sem o qual a realização deste projeto seria muito difícil.

RESUMO

Serpentes mantidas em cativeiro estão susceptíveis a diversas alterações cutâneas, incluindo descoloração das escamas devido a múltiplos fatores. O presente trabalho se propôs analisar a pele de 15 serpentes da subespécie *Crotalus durissus cascavella* mantidas em cativeiro na UFPE durante 31 meses, investigar a possibilidade de contaminação bacteriológica desses animais, bem como comparar ultraestruturalmente as referidas lesões com escamas pretas, brancas e marrons de espécimes saudáveis. Dentre os 15 animais experimentais, sete já apresentavam lesões acrômicas cutâneas no início do estudo, as quais foram primeiramente visualizadas em cativeiro. Tanto as amostras de sangue quanto às de pele foram submetidas aos procedimentos de investigação bacteriológica e análise em microscopia eletrônica de transmissão, respectivamente. Ao final da análise, o número de serpentes enfermas aumentou de forma linear, atingindo 14 animais; enquanto o número de lesões do plantel aumentou exponencialmente (618%). A maioria das lesões foi observada no dorso da região rostro-cloacal das serpentes, surgindo em média com 0,45 cm² e alcançando 20,70 cm². As lesões cutâneas em sua fase inicial apresentaram-se discrômicas, originando-se na borda e entre as escamas e se expandindo horizontalmente, principalmente, na região dorsal. Os resultados das análises do soro das serpentes descartaram a possibilidade de contaminação por bactérias do gênero *Treponema*. Os resultados ultraestruturais das escamas controles evidenciaram diferenças no perfil epidérmico-dérmico de acordo com a coloração das mesmas, variação na densidade de melanóforos e a presença de guanóforos restritos a derme nas escamas marrom e branca. Nas escamas acrômicas observou-se desarranjo nas células da epiderme, destruição nuclear progressiva dos melanócitos epidérmicos e dérmicos, a presença de corpúsculos de inclusão intranucleares semelhantes

a colônias virais e diversas partículas intranucleares e intracitoplasmáticas em células epidérmicas anucleadas. Os resultados revelam um processo crônico de despigmentação, semelhante ao vitiligo, que pode ter sido causado por um agente viral.

ABSTRACT

Snakes kept in captivity are susceptible to diverse dermal alterations, including scales discoloration due multiple factors. The purpose of the present work was analyzing the skin of 15 animals of subspecies *Crotalus durissus cascavella* kept in captivity for 31 months at the Federal University of Pernambuco, investigating the possible bacteriological contamination in the blood samples of those animals, as well as comparing those injuries ultra-structurally with black, white and brown scales of healthy control animals. Among 15 animals of the research, 7 of these presented achromic skin injuries in the beginning research. The blood and skin samples were submitted to procedures of bacteriological investigation and analysis by electronic microscopy of transmission, respectively. At the end of the analysis, the number of sick snakes linear increased, only one animal did not present visible lesions. The number of lesions increased exponentially (618%). The majority of the lesions was observed on the back of the rostro-cloacal region of the snakes and appeared with the average size of 0.45 cm², reaching 20.70 cm². The achromic skin injuries appeared between the scales and expanded to the neighbor scales, distributing throughout the body, mainly at the dorsal region. In the initial phase, they were dischromic. The blood samples did not show bacterial contamination. All the samples were submitted to procedures of analysis by electronic microscopy of transmission. The ultra-structural results of the control scales evidenced differences in the epidermis-dermis profile according to its own coloration, density variation of melanophoros and the presence of guanophoros restricted to the dermis in the brown and white scales. In the achromic scales, we observed a disarray of the epidermal cells, gradual nuclear destruction of epidermal and dermal melanocytes, a restricted presence of intra-nuclear inclusion bodies similar to viral colonies

and several intra-nuclear and intra-cytoplasmatic particles in anucleous epidermal cells. The results shows a chronic process of despigmentation similar to vitiligo, can be caused by a viral agent.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Crânio de uma serpente solenóglifa com reposição de presas.	3
Figura 2. Vértebra da região média do corpo de uma sucuri.	4
Figura 3. Esqueleto de uma serpente do gênero <i>Crotalus</i> .	4
Figura 4. Início da ecdise exibindo o desprendimento das escamas modificadas que ficam sobre os olhos.	5
Figura 5. Mudanças histológicas durante o ciclo de muda da pele das serpentes.	8
Figura 6. Cabeça de uma cascavel mostrando, entre o olho e narina, a fosseta loreal.	13
Figura 7. Dentes solenóglifos cobertos por membrana indicado por setas.	14
Figura 8. Estrutura do chocalho de uma cascavel.	15
Figura 9. Estrutura do segmento córneo do chocalho de uma cascavel.	15
Figura 10. Área de ocorrência da serpente <i>Crotalus durissus</i> na América do Sul.	17
Figura 11. <i>Crotalus durissus cascavella</i> exibindo padrão tegumentar em forma de diamante e guizo com 19 anéis córneos.	18
Figura 12. A) Machos de <i>Crotalus durissus</i> em dança combate. B) Detalhe do vencedor no momento da vitória.	18
Figura 13. <i>Crotalus sp.</i> durante o parto.	19
Figura 14. Filhote de <i>Crotalus durissus cascavella</i> com oito dias de vida.	19
Figura 15. Representação esquemática do serpentário e quarentena do Laboratório de Animais Peçonhentos e Toxinas.	25
Figura 16. Aparecimento da acromia em serpentes da subespécie <i>Crotalus durissus cascavella</i> mantidas na UFPE.	30
Figura 17. Desenvolvimento de lesões acrômicas tegumentares em serpentes da subespécie <i>Crotalus durissus cascavella</i> mantidas em cativeiro na UFPE.	31
Figura 18. Total de lesões acrômicas tegumentares no plantel de serpentes <i>Crotalus durissus cascavella</i> mantidas em cativeiro na UFPE.	31

Figura 19. Tempo de cativeiro em relação ao número de lesões nas serpentes <i>Crotalus durissus cascavella</i> no final do estudo.	32
Figura 20. Tempo de cativeiro em relação ao percentual de área lesionada total nas serpentes <i>Crotalus durissus cascavella</i> no final do estudo.	32
Figura 21. Comprometimento percentual da pele das serpentes <i>Crotalus durissus cascavella</i> com lesões acrômicas.	33
Figura 22. Percentual da área lesionada total nas serpentes <i>Crotalus durissus cascavella</i> em relação ao número de lesões existentes no plantel ao final do estudo.	33
Figura 23. Comprometimento percentual da pele na região rostro-cloacal das serpentes <i>Crotalus durissus cascavella</i> com lesões acrômicas.	35
Figura 24. Comprometimento percentual da pele na região caudal das serpentes pertencentes ao grupo B.	35
Figura 25. Média da área das primeiras lesões rostro-cloacais das serpentes pertencentes ao grupo B.	36
Figura 26. Percentual do ganho de peso nas serpentes <i>Crotalus durissus cascavella</i> em relação ao número de lesões existentes no plantel ao final do estudo.	37
Figura 27. Percentual de crescimento nas serpentes <i>Crotalus durissus cascavella</i> em relação ao número de lesões existentes no plantel ao final do estudo.	37
Figura 28. Aspecto hipocrômico de uma lesão cutânea de <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	38
Figura 29. Aspecto hipercrômico de uma lesão cutânea de <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	39
Figura 30. Relação entre o número de lesões e a localização das serpentes <i>Crotalus durissus cascavella</i> nas estantes do serpentário do LAPT _x .	39
Figura 31. Eletromicrografias da escama controle preta de <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	42
Figura 32. Eletromicrografias da escama controle marrom de <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	43
Figura 33. Eletromicrografias da escama controle marrom de <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	44
Figura 34. Eletromicrografias da escama controle branca de <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	45

Figura 35. Eletromicrografias da escama controle branca de <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	46
Figura 36. Aspectos ultraestruturais da região dérmica de <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	47
Figura 37. Eletromicrografias da escama acrômica de <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	48
Figura 38. Eletromicrografias da escama acrômica de <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	49
Figura 39. Eletromicrografias da escama acrômica de <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	50
Figura 40. Eletromicrografias da escama acrômica de <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação das serpentes vivas no mundo segundo McDowell (1987).	2
Tabela 2. Dados gerais e parâmetros biométricos dos animais experimentais da subespécie <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	25
Tabela 3. Aspectos ultraestruturais das escamas controle e acrômicas de <i>Crotalus durissus cascavella</i> .	53

ÍNDICE

Citação	I
Dedicatória	II
Agradecimentos	III
Resumo	VII
Abstract	IX
Lista de Figuras	XI
Lista de Tabelas	XIV
Acromia Cutânea em Serpentes <i>Crotalus durissus cascavella</i> Mantidas em Cativeiro	01
1. Introdução	01
2. Objetivos	23
3. Materiais e Métodos	24
3.1. Serpentes	24
3.2. Análise macroscópica da pele de <i>Crotalus durissus cascavella</i>	26
3.3. Determinação de VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) e FTA- abs (Fluorescent Treponemal Antibody Absorption) no soro das serpentes <i>Crotalus durissus cascavella</i>	27
3.4. Coleta das escamas de <i>Crotalus durissus cascavella</i> para processamento em microscopia eletrônica de transmissão	28
3.5. Processamento das escamas de <i>Crotalus durissus cascavella</i> em microscopia eletrônica de transmissão	28

4. Resultados	30
4.1. Aparecimento da acromia em serpentes da subespécie <i>Crotalus durissus cascavella</i>	30
4.2. Evolução da acromia na pele de <i>Crotalus durissus cascavella</i>	38
4.3. Distribuição das lesões tegumentares em <i>Crotalus durissus cascavella</i> em relação à disposição das serpentes nas estantes do serpentário	39
4.4. Determinação de VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) e FTA-abs (Fluorescent Treponemal Antibody Absorption) no soro das serpentes <i>Crotalus durissus cascavella</i>	40
4.5. Aspectos ultraestruturais da pele de <i>Crotalus durissus cascavella</i>	41
5. Discussão	54
6. Conclusões	63
7. Referências Bibliográficas	64
Anexo 1. Registro da área corpórea total de 15 serpentes da subespécie <i>Crotalus durissus cascavella</i>	73
Anexo 2. Registro do número de lesões acrômicas tegumentares rosto-cloacais e caudais em 15 serpentes da subespécie <i>Crotalus durissus cascavella</i>	74
Anexo 3. Registro do percentual da área lesionada rostro-cloacal em relação à área rostro-cloacal de 15 serpentes da subespécie <i>Crotalus durissus cascavella</i>	75
Anexo 4. Registro da área lesionada total de 15 serpentes da subespécie <i>Crotalus durissus cascavella</i>	76
Anexo 5. Registro do percentual da área lesionada caudal em relação à área caudal de 15 serpentes da subespécie <i>Crotalus durissus cascavella</i>	77
Anexo 6. Registro do percentual da área lesionada total em relação à corpórea total de 15 serpentes da subespécie <i>Crotalus durissus cascavella</i>	78

Anexo 7. Acompanhamento do crescimento médio das primeiras áreas lesionadas rostro-cloacais de 15 serpentes da subespécie <i>Crotalus durissus cascavella</i>	79
Anexo 8. Registro do peso (kg) de 15 serpentes da subespécie <i>Crotalus durissus cascavella</i>	80
Anexo 9. Registro do comprimento total de 15 serpentes da subespécie <i>Crotalus durissus cascavella</i>	81

ACROMIA CUTÂNEA EM SERPENTES *Crotalus durissus cascavella* MANTIDAS EM CATIVEIRO

1. INTRODUÇÃO

As serpentes ou ofídios são popularmente conhecidas como cobras e estão classificadas: 1) no grupo dos vertebrados por terem um endoesqueleto e um crânio que envolve o encéfalo; 2) no filo chordata, por possuírem notocorda e simetria bilateral; 3) na classe reptilia devido a um coração com três cavidades, respiração pulmonar e serem ectotérmicas; 4) na ordem squamata por possuírem o corpo totalmente coberto de escamas epidérmicas; 5) na subordem serpentes pela presença de um esqueleto formado por um crânio, uma longa coluna vertebral, costelas flutuantes, ausência de osso externo e, em algumas famílias, rudimentos da pélvis e membros posteriores (Pough *et al.*, 1999; Ophidia, 2005).

A subordem ophidia ou serpente apresenta, aproximadamente, 2.930 espécies distribuídas por quase todas as regiões do globo, principalmente, em regiões temperadas e tropicais, estando ausentes nas regiões polares, de altitude e nas fossas marinhas. As serpentes ocupam, praticamente, todos os ambientes disponíveis, desde os terrestres, subterrâneos, arbóreos e aquáticos (águas oceânicas e continentais) (Melgarejo, 2003).

O registro fóssil mais antigo de serpente, *Dinilysia patagonica*, foi encontrado em depósitos do Cretáceo inferior da Argentina, datando cerca de 135 milhões de anos. O desenvolvimento da maior parte das serpentes deve ter ocorrido no Cenozóico (Marques *et al.*, 2001; Melgarejo, 2003).

Devido as suas características, acredita-se que as serpentes originaram-se a partir da linhagem Anguimorpha onde se encontram, dentre outras, as famílias Varanidae representadas pelos lagartos monitores e Helodermatidae representada pelos monstro-

de-Gila. Os problemas de parentesco entre as serpentes e os demais Squamata consistem em hipóteses adaptacionistas entre uma origem fossorial versus uma origem marinha (Caldwell, 1999). Admite-se que as serpentes podem ter sido derivadas de lagartos de vida subterrânea que por adaptação tiveram corpo extremamente alongado, redução de patas e olhos semi-atrofiados que evoluíram quando as serpentes ocuparam o nicho superficial. Acredita-se que esta dicotomia entre lagartos e as formas primitivas de serpentes ocorreu, muito provavelmente, antes do final do Jurássico (Carroll, 1988; Melgarejo, 2003).

De acordo com a classificação de McDowell (1987) (*apud* Melgarejo, 2003), as serpentes estão distribuídas em duas infra-ordens, sete superfamílias e 19 famílias (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação das serpentes vivas no mundo segundo McDowell (1987).

INFRAORDEM	SUPERFAMÍLIA	FAMÍLIA
SCOLECOPHIDIA	Typhlopoidea	Anomalepididae*
		Typhlopidae*
ALETHINOPHIDIA	Acrochordoidea	Nigeropheidae
		Palaeopheidae
		Anomalopheidae
		Acrochordidae
	Anilioidea	Loxocemidae
		Xenopeltidae
		Aniliidae*
	Uropeltidae	
	Tropidopheoidea	Tropidopheidae*
Bolyerioidea	Bolyeriidae	
Booidea	Pythonidae	
Colubroidea	Boidae*	
	Série Proteroglypha	Atractaspididae
	Série Opisthoglypha	Elapidae*
Série Solenoglypha	Colubridae*	
		Viperidae*

* Famílias encontradas no Brasil

As serpentes possuem corpo alongado coberto por escamas epidérmicos que apresentam diversas formas, texturas e tamanhos, muitas vezes resultado de adaptações para exercerem funções específicas, utilizam os mais diversos substratos para o forrageamento, sendo consideradas fossoriais, semi-fossoriais, terrícolas, arborícolas, sub-arborícolas e aquáticas lacustres marinhas (Vanzoline *et al.*, 1980; Borges, 1999). Esses animais não apresentam pálpebras móveis, ouvido externo, tímpano, ouvido médio e membros locomotores, são exclusivamente carnívoros e possuem grande elasticidade nos movimentos cranianos, especialmente, nas articulações da mandíbula por serem unidas entre si por um ligamento elástico, e com o crânio pelos ossos móveis quadrado e supratemporal (Figura 1) (Melgarejo, 2003; Ophidia, 2005).

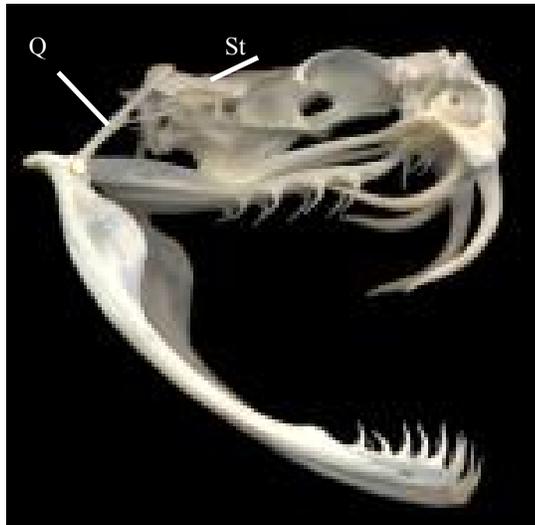


Figura 1 - Crânio de uma serpente solenóglifa com reposição de presas. Q: osso quadrado; St: osso supratemporal. (Fonte: www.tellmewhereonearth.com).

O esqueleto está integrado por tecido cartilaginoso e ósseo. Nas vértebras existem articulações adicionais (Figura 2), *zygosphenum* e *zygantrum*, que limitam a mobilidade entre as vértebras, diminuindo o ângulo articular. Estas articulações tornam-se necessárias para garantir o suporte à coluna vertebral que pode ultrapassar os 500 pares de vértebras (Figura 3) (Zug *et al.*, 2001 *apud* Melgarejo, 2003).

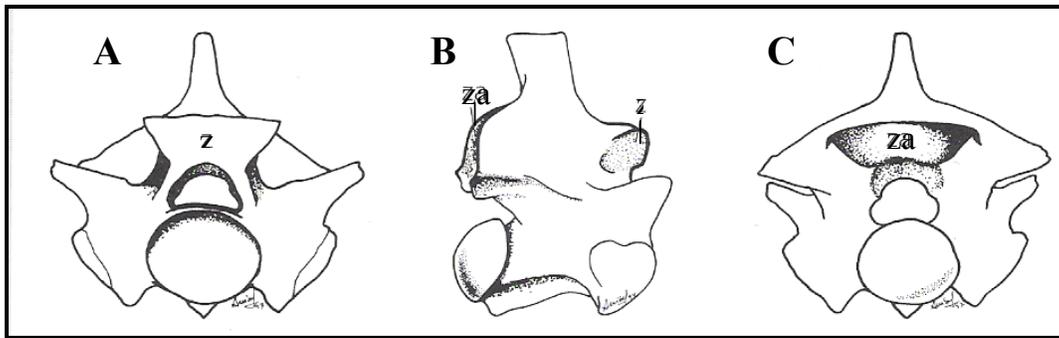


Figura 2 – Vértebra da região média do corpo de uma sucuri (*Eunectes murinus*) mostrando o *zygosphenum* (z) e *zygantrum* (za). A) vista anterior, B) vista lateral direita, C) vista posterior. (Fonte: Melgarejo, 2003).

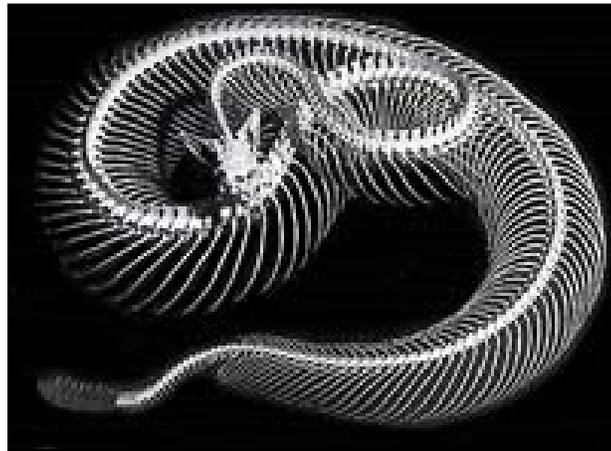


Figura 3 - Esqueleto de uma serpente do gênero *Crotalus*. (Fonte: www.iabc.cz).

As serpentes apresentam uma grande variação de comprimento, as menores podem atingir até 10 centímetros, enquanto as maiores representantes podem superar os 10 metros (Venenonemia, 2005).

Através das ecdises o crescimento ósseo das serpentes é acompanhado pelo crescimento tegumentar. Cerca de oito dias antes da ecdise, as serpentes diminuem bastante sua atividade, recolhem-se a cantos tranquilos e ficam com os olhos opacos e a pele com aparência leitosa, devido à interposição de líquido entre a pele nova e a velha. Logo depois da troca da pele (Figura 4), as serpentes ficam novamente muito ativas,

com um aspecto renovado e cores mais vivas. Por esta causa, desde a Antigüidade, principalmente entre os povos orientais, as serpentes passaram a ser consideradas como símbolo de vida eterna e até os dias atuais são usadas de diversas formas na medicina tradicional, onde remédios são produzidos utilizando serpentes inteiras ou seus diversos órgãos (Ophidia, 2005).



Figura 4 – Início da ecdise exibindo o desprendimento das escamas modificadas que ficam sobre os olhos. (Fonte: www.zoltantakacs.com).

A pele das serpentes é muito importante, pois desempenha várias funções: 1) auxiliar a locomoção por meio da fixação das escamas aos substratos; 2) proteger dos tecidos subjacentes, reduzindo a ação de agentes traumatizantes; 3) impedir a penetração de agressores, fornecendo uma barreira contra a infecção por microorganismos; 4) evitar a perda de água para o ambiente; 5) permitir uma camuflagem eficiente, facilitando a caça de uma presa ou escape de um predador; 6) detectar sensorialmente as presas e predadores através das fossetas; 7) sinalizar aposemáticamente; 8) reconhecer sexualmente; 9) controlar a síntese de vitamina D; 10) termorregular e 11) apresentar importante valor taxonômico (Ackerman, 2003; Filho *et al.*, 1994; Hildebrand, 1995; Pough *et al.*, 1999; Venenonemia, 2005).

A pele ofídica é o maior órgão do corpo e, apesar de formada por escamas, apresenta uma flexibilidade conferida pela zona de articulação ou dobradiça situada

entre as escamas. A pele é frequentemente mais permeável na região dorsal do que na ventral e possui glândulas holócrinas onde a célula é expulsa com sua secreção. Ela é composta de duas camadas principais: a epiderme superficial, de origem ectodérmica e a derme mais profunda, de origem mesodérmica (Ackerman, 2003; Dellmann e Brown, 1982; Venenonemia, 2005).

A epiderme é particularmente complexa, pois além de diferenciar-se em escamas, apresenta-se estruturalmente estratificada, sendo periodicamente regenerada e trocada através da ecdise, sempre que necessário, pois as células do estrato germinativo proliferam-se rapidamente por mitose, permitindo o crescimento corpóreo da serpente e a manutenção da sua integridade tegumentar (Ackerman, 2003; Dellmann e Brown, 1982).

No momento da ecdise ocorre a liberação de uma camada inteira da epiderme, a geração epidérmica externa, a qual é constituída por cinco camadas: 1) a oberhäutchen, camada acelular com espículas, responsável pela dureza das escamas; 2) a queratina- β , onde são depositados os grânulos de melanina; 3) camada mesos, a qual funciona como a principal barreira contra a perda de água; 4) queratina- α , camada de material anucleado, também responsável pelo controle da perda de água e flexibilidade das escamas; 5) tecido lacunar, que armazena lipídios, especificamente fosfolipídios e colesterol; e 6) camada clara, local de separação entre as gerações epidérmicas durante à ecdise (Landmann, 1979; Roberts e Lillywhite, 1983; Hildebrand, 1995).

Logo após a ecdise, a geração epidérmica interna, formada pelas camadas oberhäutchen, queratina- β , mesos e a queratina- α parcialmente formada sobre o estrato germinativo, envolve a superfície corpórea da serpente. De acordo com as mudanças histológicas da pele ofídica, o ciclo total da ecdise é dividido em seis estágios caracterizado por: 1º subdivisão em três subetapas: a) período imediato após a muda, no

qual a maior parte da camada- α da geração epidérmica externa é formada; b) perfeita condição de repouso, pois a produção celular é bastante reduzida e c) conclusão da geração epidérmica externa, quando o tecido lacunar e a camada clara são formados; 2° surgimento da camada oberhäutchen da geração epidérmica interna; 3° surgimento da camada de queratina- β da geração epidérmica interna; 4° maturação da camada de queratina- β e pelo surgimento da camada mesos da geração epidérmica interna; 5° final da maturação da camada clara da geração epidérmica externa e pela maturação das camadas oberhäutchen e mesos da geração epidérmica interna; 6° maturação de toda a geração epidérmica externa e das camadas oberhäutchen, queratina- β e mesos da geração epidérmica interna, bem como do surgimento e queratinização das células mais superficiais da camada de queratina- α . O estrato germinativo, camada mais profunda da epiderme, está constituído por células pequenas, agrupadas compactamente, que só aumentam de tamanho durante os estágios 4° e 5° do ciclo de muda (Figura 5) (Landmann, 1979).

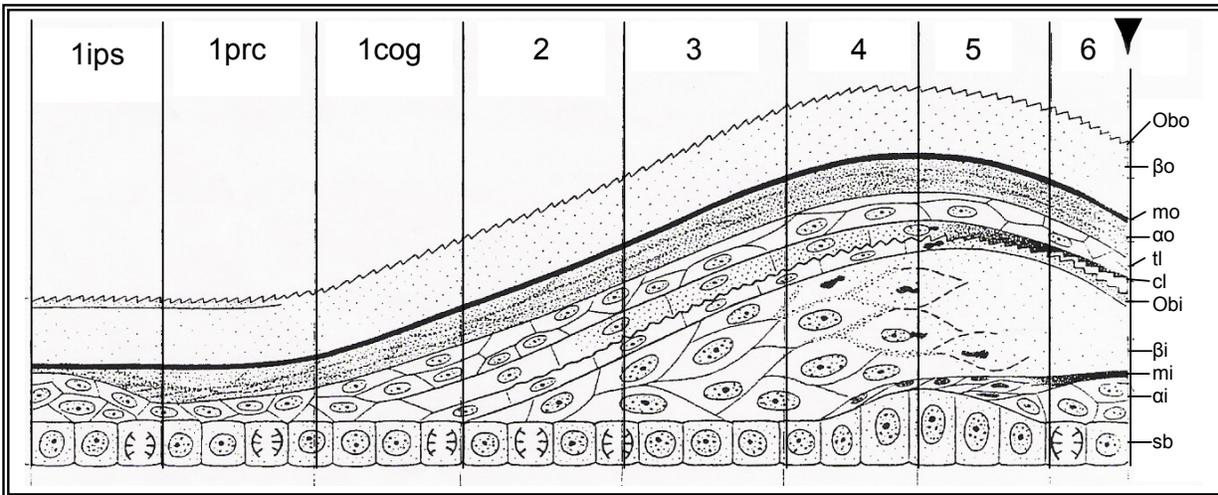


Figura 5 - Mudanças histológicas durante o ciclo de muda da pele das serpentes. Os números indicam os estágios; 1ips: período imediato após a muda; 1prs: perfeita condição de repouso; 1cog: conclusão da geração epidérmica externa; ▼: indica o momento de ecdise; Obo: oberhäutchen da geração epidérmica externa; β_o : camada de queratina- β da geração epidérmica externa; mo: camada mesos da geração epidérmica externa; α_o : camada de queratina- α da geração epidérmica externa; tl: tecido lacunar; cl: camada clara; Obi: oberhäutchen da geração epidérmica interna; β_i : camada de queratina- β da geração epidérmica interna; mi: camada mesos da geração epidérmica interna; α_i : camada de queratina- α da geração epidérmica interna; sb: estrato basal ou germinativo. (Fonte: Landmann, 1979).

Durante a diferenciação das células da crista neural, ocorre em direção à derme, a migração de precursores das células pigmentares, os cromatoblastos, os quais, após se distribuírem uniformemente, diferenciam-se em melanócitos e cromatóforos. O padrão tegumentar das serpentes começa a ser observado logo depois que o filhote é formado, contudo, os melanócitos presentes ainda não produzem melanina, pois é necessário que a densidade celular aumente para o início da melanogênese. Esta é iniciada quando vesículas do complexo de golgi, juntamente com a enzima tirosinase, sintetizada no retículo endoplasmático rugoso, vão se diferenciar e formar os melanossomos, nos quais serão depositados os grânulos de melanina (Bagnara *et al.*, 1979; Murray e Myerscough, 1991; Cooper e Greenderg *in* Gans, 1992).

Entre as células do estrato germinativo encontram-se células pigmentares chamadas melanóforos epidérmicos, os quais durante o crescimento epidérmico enviam

ramificações citoplasmáticas contendo grânulos de melanina maduros para serem depositados nos espaços intercelulares e dentro dos queratinócitos da camada- β . No momento da ecdise, a geração epidérmica externa quando liberada revela o padrão característico da malha da serpente, pois possui os depósitos de melanina que correspondem à distribuição horizontal das áreas pigmentadas nas camadas mais internas da pele (Ranh, 1941).

A presença dos melanóforos epidérmicos pode variar de acordo com a localização geográfica do animal, a idade, o sexo e as regiões do corpo. Nas áreas escuras a visualização torna-se mais fácil, pois os melanóforos encontram-se em maior densidade quando comparados com as áreas claras (Murray e Myerscough, 1991; Cooper e Greenderg *in* Gans, 1992).

A derme vascular localiza-se sob o extrato germinativo, apresenta nervos e está conectada ao tecido muscular liso subjacente através de tecido conjuntivo, é rica em colágeno e, além de apresentar cromatóforos, também possui melanóforos dérmicos de aspecto estrelado, cujas ramificações terminam entre as células epidérmicas podendo também depositar grânulos de melanina na epiderme. Os melanóforos são as únicas células pigmentares capazes de produzir seus próprios pigmentos (Ackerman, 2003; Ranh, 1941; Cooper e Greenderg *in* Gans, 1992; Pough, 1999; Venenonemia; 2005).

As células pigmentares são classificadas conforme o pigmento que armazenam e a cor que refletem. Quando controladas por ações do sistema nervoso, essas células manifestam as rápidas mudanças fisiológicas de cor, e quando controladas por hormônios produzidos pela região intermediária da glândula pituitária, provocam as lentas modificações morfológicas de cor (Cooper e Greenderg *in* Gans, 1992).

A presença ou ausência, a densidade, a distribuição e a interação dos melanócitos com os diferentes tipos de cromatóforos determinam os vários padrões e cores vistas na pele das serpentes (Kaplan, 2002).

Existem diferentes tipos de cromatóforos: os xantóforos que exibem as cores amarela e laranja, os eritróforos (vermelho e laranja), os iridóforos (brilhante, sem cor natural), os guanóforos (azul, branco e amarelo), os leucóforos (branco), os lipóforos (verde), os alóforos (laranja, vermelha e violeta), e ainda alguns “cromatóforos híbridos” também conhecidos como mosaico de cromatóforos, pois apresentam organelas características de diferentes tipos de cromatóforos demonstrando sua plasticidade e sugerindo que estejam em processo de transição entre os outros tipos de cromatóforos (Sherbrooke e Frost, 1989; Cooper e Greenderg *in* Gans, 1992; Bauchot, 1996 *in* Venenonemia, 2005; Tartaret, 2005).

As cascavéis possuem o padrão pigmentar do tipo diamante, classificado como complexo, cujas cores são geralmente sombreadas de marrom para amarelo pálido, com escamas pretas e brancas, conferidas pela presença de melanóforos epidérmicos e dérmicos, além de dois tipos diferentes de guanóforos que refletem as cores amarela e branca (Ranh, 1941; Coborn, 1991; Murray e Myerscough, 1991).

Naturalmente o padrão de pigmentação das serpentes é diversificado, contudo há registros de serpentes da espécie *Elaphe guttata* que, em ambiente natural, manifestaram uma doença auto-imune conhecida como pielbaldismo ou cálico, caracterizada pelo aparecimento de bolhas associadas com manchas brancas de vários tamanhos que substituem parte da cor e do padrão habitual da pele deformando as escamas (Cornsnake, 2005).

Novos padrões de pigmentação podem ser vistos em serpentes mantidas em cativeiro como resultado de mutações. As principais mutações são: 1) albinismo total,

quando a falta da melanina torna os animais brancos ou rosa com olhos rosados ou vermelhos, devido à presença da hemoglobina; 2) albinismo parcial, no qual um ou mais pigmentos estão ausentes, porém os animais possuem alguma coloração, como as serpentes que possuem o corpo branco e os olhos negros; 3) aneritismo, quando a coloração vermelha é ausente; 4) axântico, quando a pigmentação amarela é ausente; 5) xântico, quando a coloração amarela é muito intensa; 6) amelanismo, quando o tegumento não possui melanina, porém, devido à presença de outros pigmentos os animais podem apresentar coloração pálida, geralmente rosa ou vermelha; 7) hipomelanismo, quando a pele do animal apresenta-se alaranjada pela redução na quantidade de melanina e aumento na quantidade de pteridinas e carotenóides; 8) melanismo, caracterizado pelo excesso de melanina provocando um escurecimento de toda a superfície corpórea dos animais (Ihle *et al.*, 2000).

Indivíduos da mesma espécie podem apresentar variações na coloração de sua pele, as quais estão relacionadas com diferenças individuais nos padrões de desenho ou na quantidade de pigmentos, e outras variações ontogenéticas, de modo que a coloração dos adultos é diferente daquelas que tinham quando jovens, e mesmo quando adulto a cor pode variar intraespecificamente de acordo com o dimorfismo sexual, como ocorre em *Crotalus lepidus klauberi*, onde os machos apresentam a coloração esverdeada e as fêmeas à coloração cinza (Marques *et al.*, 2001; Venenonemia, 2005).

Apesar do padrão cromático ser determinado geneticamente, algumas serpentes, incluindo cascavéis, podem apresentar mudança morfológica de cor induzida pela incidência de radiação solar sobre a pele (Orr, 1986; Reháč, 1987 *apud* Cooper e Greenderg, 1992; Pough, 1999). Este fenômeno é controlado pelo hormônio estimulador de melanóforo (MSH) que estimula o aumento de produção de melanina nos

melanóforos epidérmicos, bem como a dispersão de melanosomas nos melanóforos dérmicos (Cooper e Greenderg *in* Gans, 1992).

As modificações morfológicas de cor produzidas pela glândula pituitária são reversíveis, contudo, apenas a retirada de sua região intermediária através da hipofisectomia, é suficiente para, em uma hora, manifestar sinais de um clareamento permanente na pele de serpentes da espécie *Crotalus viridis viridis*. Isto ocorre devido a uma concentração pigmentar em todos os melanóforos, inclusive nos melanóforos dérmicos que, ao retraírem suas ramificações terminadas na epiderme, formam máculas acrómicas diferentes da coloração branca normal exibida pelos melanóforos, os quais não sofrem qualquer alteração. O clareamento torna-se mais evidente após a realização da ecdise (3 - 4 semanas após a hipofisectomia), pois os depósitos de melanina presentes na queratina- β da geração epidérmica externa são liberados sem que haja nova deposição deste pigmento na pele subjacente (Ranh, 1941).

Alterações na coloração tegumentar das serpentes também podem ocorrer quando as células pigmentares adquirem a propriedade metastática, podendo ser capazes de manifestar o fenótipo de outro cromatóforo, dando origem aos melanosarcomas e cromatoforomas (Ball, 1945; Frye *et al.*, 1975; Jacobson *et al.*, 1989).

A família Viperidae está subdividida em duas subfamílias: a subfamília Viperinae, onde estão agrupadas as víboras verdadeiras, encontradas por todo Velho Mundo; e a subfamília Crotalinae, encontrada no continente americano e sul da Ásia, representada pelas víboras que apresentam fosseta loreal (um par de orifícios com função termorreceptora, localizados entre o olho e a narina) (Figura 6) (Stocker, 1990).

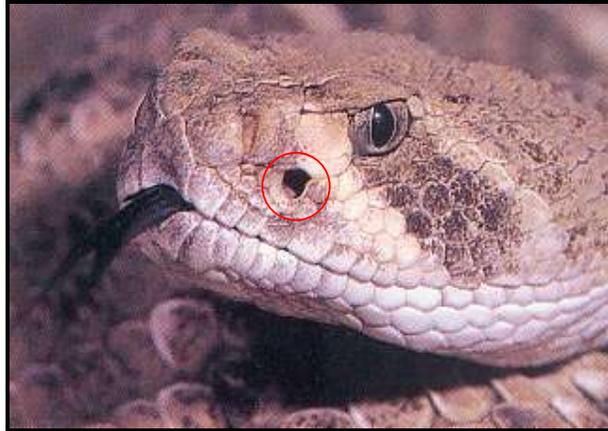


Figura 6 – Cabeça de uma cascavel mostrando, entre o olho e narina, a fosseta loreal.
(Fonte: www.saude.pr.gov.br).

Mundialmente são membros da subfamília Crotalinae 31 espécies de jararacas, uma espécie de surucucus e 26 espécies de cascavéis (Campbell e Lamar, 1989). No Brasil existem duas famílias de serpentes peçonhentas de importância médica: Viperidae e Elapidae. A família Viperidae está representada pelos gêneros *Bothrops* (jararacas), *Crotalus* (cascavéis) e *Lachesis* (surucucus), e Elapidae pelos gêneros *Micrurus* e *Leptomicrurus* (corais verdadeiras) (Borges, 1999).

Os viperídeos apresentam dentição tipo solenóglifa, caracterizada por presas móveis inoculadoras de peçonha, grandes, totalmente canaliculadas e cobertas por uma membrana (Figura 7) (Pough, 1983).

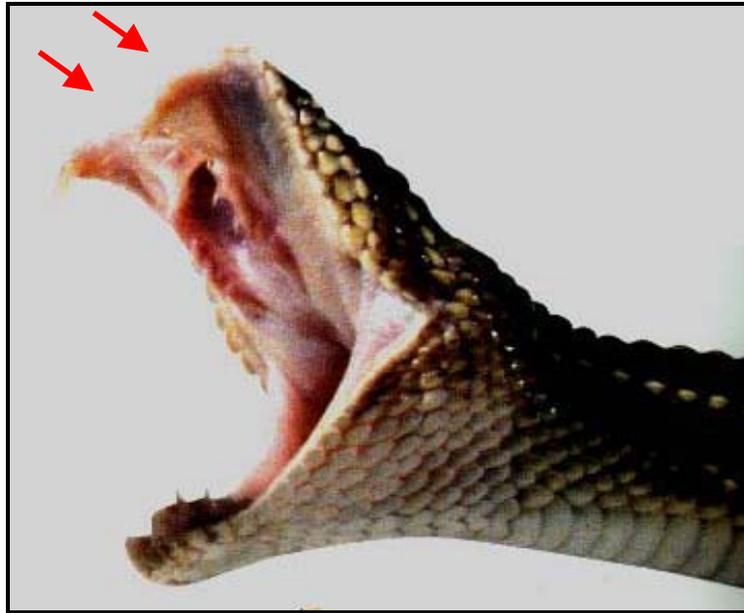


Figura 7 – Dentes solenóglifos cobertos por membrana indicado por setas.
(Fonte: www.museum.state.il.us).

A origem do gênero *Crotalus*, segundo registros fósseis e biodistribuição, é norte-americana (Vanzolini e Heyer, 1985) e a sua migração para América do Sul parece ter ocorrido no Plioceno, quando estes dois continentes achavam-se interligados (Estes e Baez, 1985; Campbell e Lamar, 1989).

Além da fosseta loreal, o gênero *Crotalus* apresenta um apêndice caudal, conhecido como guizo ou chocalho, formado pela modificação das escamas que envolve a fusão das últimas vértebras caudais, formando uma peça única, o estilo, no qual se inserem os músculos que movimentam esta estrutura (Figura 8). Os segmentos córneos do chocalho se articulam frouxamente entre si, por sua estrutura e forma peculiares (Figura 9), e cada um representa uma porção remanescente da ecdise, evento durante o qual o antigo segmento basal é puxado, e se desloca sem desprender-se (Melgarejo, 2003).

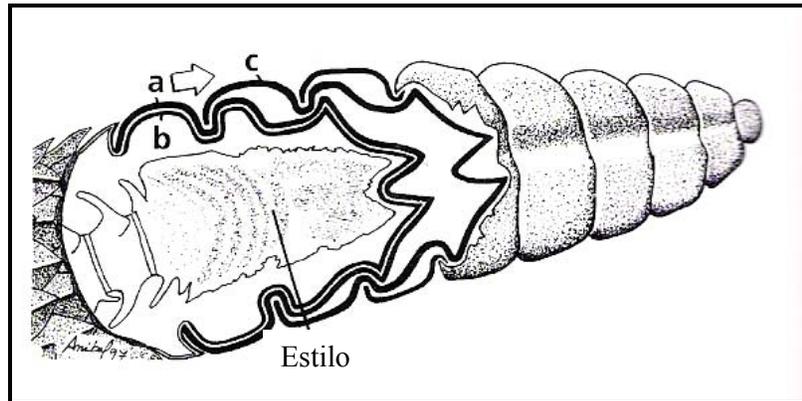


Figura 8 – Estrutura do chocalho de uma cascavel mostrando a adaptação terminal da coluna vertebral (estilo), e o mecanismo de crescimento do chocalho: durante a ecdise, o segmento córneo basal (a) é puxado em sentido posterior, mas enquanto o restante da epiderme se desprende, ele se desloca para a posição (c), enquanto que o novo segmento formado (b) permanece na base. (Fonte: Melgarejo, 2003).

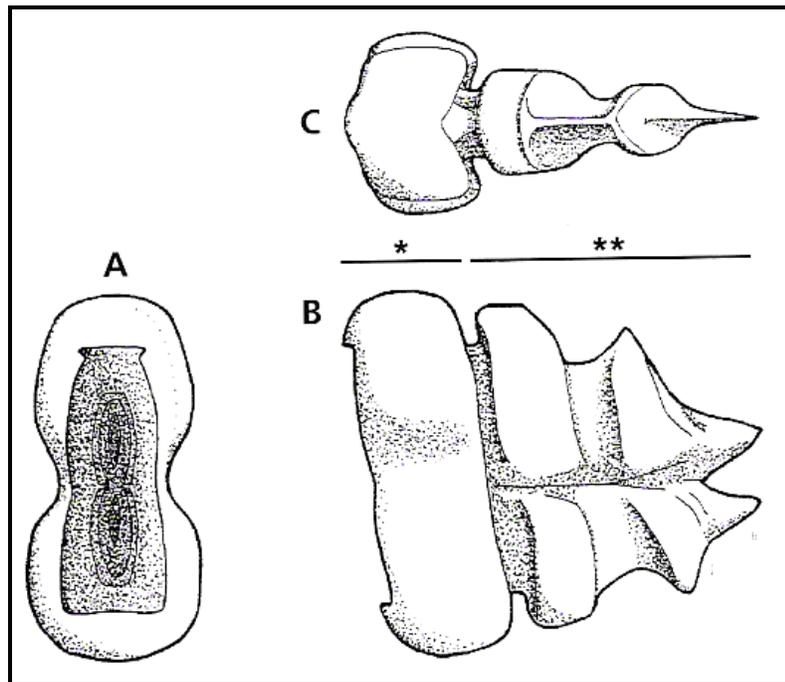


Figura 9 – Estrutura do segmento córneo do chocalho de uma cascavel. A) vista anterior, B) vista da lateral esquerda mostrando o setor que permanece externo (*), e o que internamente sustenta o segmento contínuo (**), C) vista superior. (Fonte: Melgarejo, 2003).

A função do guizo ou chocalho é advertir os potenciais predadores da sua posição. Apenas o gênero *Sistrurus*, grupo filogenético mais próximo de *Crotalus* (Cadle, 1988), possui estrutura semelhante e a distinção entre ambos se faz pelo padrão de arranjo das escamas da região cefálica (Tu, 1982).

Por conservar os vestígios de cada ecdise, geralmente de oito a 20 anéis córneos, muitos acreditam ser possível determinar a idade da serpente pela quantidade de anéis presentes na cauda, contudo, as ecdises acontecem várias vezes por ano, os anéis mais antigos se desgastam e se desprendem do guizo e qualquer movimento brusco da cauda contra os substratos pode fazê-lo quebrar (Melgarejo, 2003).

Embora os trabalhos que enfoquem a distribuição de serpentes neotropicais sejam relativamente escassos (Sazima, 1992), a zona de ocupação de habitats pelo gênero *Crotalus* é bastante ampla, ocorrendo em quase todos os ambientes abertos do continente americano ou, até mesmo, em regiões desérticas (Campbell e Lamar, 1989).

Na América do Sul, o gênero *Crotalus* é representado apenas pela espécie *Crotalus durissus*, subdividida em seis subespécies, a saber: 1) *Crotalus durissus dryinus*, encontrada na costa da Guiana, Suriname e Guiana Francesa, além do interior do Amapá; 2) *Crotalus durissus ruruima*, do sul da Venezuela, sudoeste da Guiana e leste de Roraima; 3) *Crotalus durissus marajoensis*, endêmica da Ilha de Marajó, estado do Pará; 4) *Crotalus durissus collilineatus*, a qual habita os estados de Rondônia, Mato Grosso, Goiás, sudoeste da Bahia, oeste de Minas Gerais, São Paulo e provavelmente, oeste do Paraná; 5) *Crotalus durissus terrificus*, distribuída pelo Peru, centro da Bolívia, parte do Paraguai, norte da Argentina e norte do Uruguai, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo e 6) *Crotalus durissus cascavella*, que ocupa regiões de caatinga no Nordeste do Brasil (Figura 10) (Campbell e Lamar, 1989). Possivelmente, devido ao alto grau de antropização do seu habitat natural, *Crotalus*

durissus cascavella tem sido registrada em ambientes de mata remanescente no litoral pernambucano (Aquino, 1999).

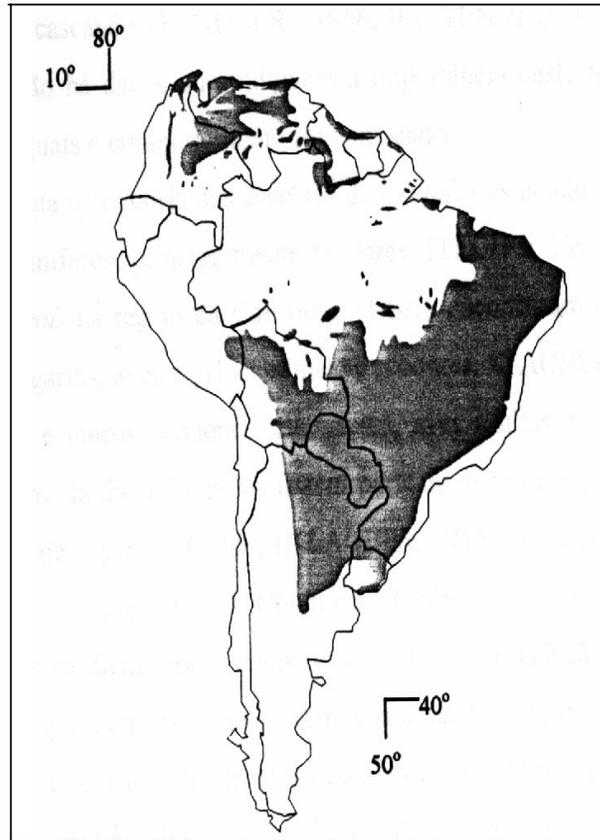


Figura 10 – Área de ocorrência da serpente *Crotalus durissus* na América do Sul. (Fonte: Campbell e Lamar, 1989).

As serpentes da espécie *Crotalus durissus cascavella* (Figura 11) são terrícolas e de hábitos predominantemente crepuscular e noturno. Esses animais atingem um comprimento de 180 centímetros alimentando-se de lagartos, aves e, principalmente, de roedores que capturam através do bote predatório com comprimento equivalente a um terço do seu corpo a uma velocidade de 0,004 segundos. Os machos, no período de acasalamento, realizam a chamada “dança combate”, cujo vencedor será aquele que se mantiver mais alto (Figura 12). As serpentes são vivíparas (Figura 13) e tem em média de 20 filhotes por ninhada, porém, podem dar a luz até 45 filhotes, os quais nascem com aproximadamente 30 centímetros de comprimento (Figura 14) (Coborn, 1991).

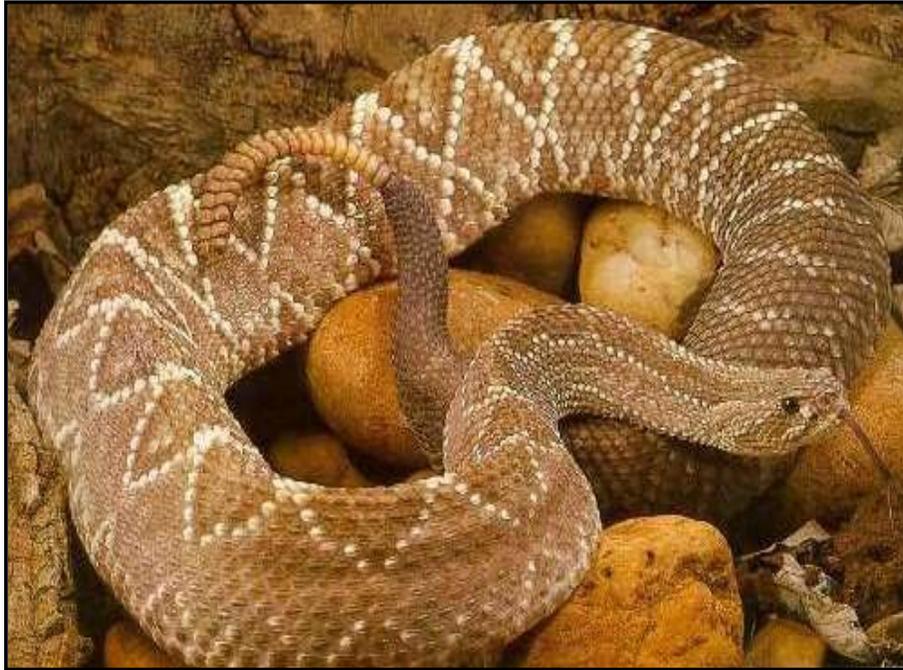


Figura 11 – *Crotalus durissus cascavella* exibindo padrão tegumentar em forma de diamante e guizo com 19 anéis córneos. (Fonte: www.zoologiarn.hpg.ig.com.br).

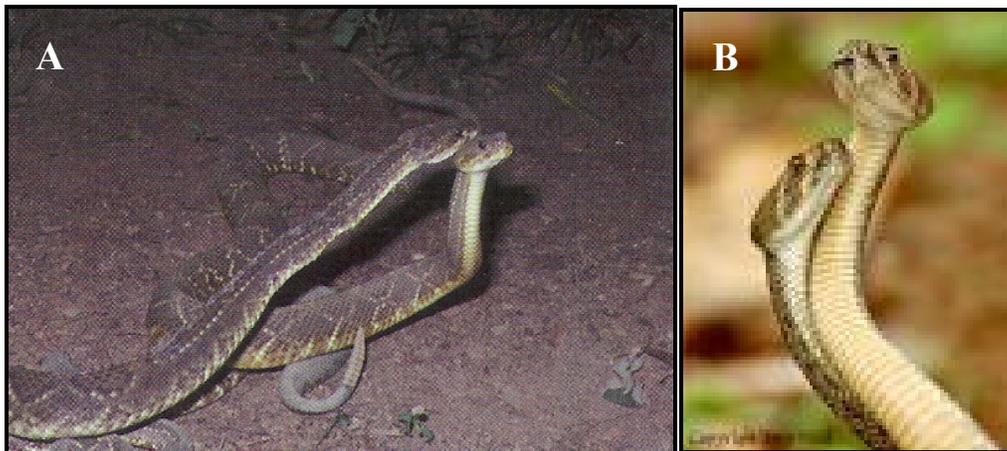


Figura 12 - A) Machos de *Crotalus durissus* em dança combate. B) Detalhe do vencedor no momento da vitória. (Fontes: A) Marques e Sazima, 2003; B) www.naturescapes.net).



Figura 13 – *Crotalus sp.* durante o parto. (Fonte: www.massasauga.ca).



Figura 14 – Filhote de *Crotalus durissus cascavella* com oito dias de vida. (Foto: Araújo, L.S.).

São escassas as informações sobre enfermidades em serpentes encontradas livres em seu ambiente natural, contudo, em cativeiro tem-se a maior quantidade de registros de doenças com agentes infecciosos envolvendo serpentes mantidas em zoológicos e coleções para pesquisa científica (Jacobson, 1993; 2004), o que não significa dizer que as serpentes selvagens sejam, necessariamente, menos suscetíveis às mesmas enfermidades que atingem serpentes mantidas em cativeiro (Cheatwood, 2000).

Serpentes em cativeiro, freqüentemente, estão submetidas a condições climáticas diferentes das encontradas em seu habitat natural. Quando relacionados à temperatura, a umidade, a luminosidade, o fotoperíodo, a disponibilidade de água, a super população e

ao espaço físico diferente do habitat natural (Ackerman, 2003; Barnard, 1996; Cubas *in* Francisco, 1997), com variação na frequência alimentar, deficiência nutricional, deficiência na higiene do local de acondicionamento e erros de manejo; as serpentes são conduzidas à depressão de seu sistema imune e, portanto, tornam-se mais vulneráveis a invasão de agentes patógenos oportunistas (Ferreira, 1999; Jacobson, 2004).

As serpentes também podem ser afetadas por muitas doenças parasitárias, infecções bacterianas, fúngicas e até virais, que associadas ao período reprodutivo, contusões e problemas na ecdise, podem provocar vários problemas clínicos locais ou sistêmicos nos órgãos internos e também na superfície tegumentar, os quais requerem diagnose e tratamento imediatos (Jacobson, 1993; Barnard, 1996; Cheatwood, 2000; Kaplan, 2002). A realização de estudos detalhados sobre doenças infecciosas é freqüentemente impedida, principalmente, pela falta de suporte financeiro devido ao alto custo do diagnóstico, contribuindo para que, dentre os vertebrados, os répteis sejam o grupo menos estudado do ponto de vista dos patógenos, especialmente em populações selvagens (Jacobson, 2004).

As enfermidades cutâneas em serpentes são expressas por diferentes sinais clínicos como sangramentos, edemas, abscessos, tumores, bolhas, nódulos, cistos, vermelhidão e descoloração (Kaplan, 2002; 2003; Jacobson, 2004).

A despigmentação da pele e a formação de máculas acrômicas que tendem a expandir-se aumentando a superfície da área lesionada é um sinal clínico compartilhado tanto pelo vitiligo (Souza Filho, 1991), enfermidade já registrada em humanos, cavalos, porcos, ratos e galinhas (Palkowski *et al.*, 1987), quanto pela pinta, uma doença infecto-contagiosa não-venérea causada por *Treponema carateum* cujo diagnóstico é feito através de testes sorológicos (Fitzpatrick, 1979).

Todas as espécies de serpentes estão sujeitas a uma diversidade de patologias, contudo existem algumas que são específicas para determinadas famílias e gêneros, especialmente no caso de enfermidades virais (Uplgc, 2005). Serpentes das espécies *C. durissus* e *C. basiliscus* são as primeiras a morrerem quando expostas ao paramyxovírus ofidio (OPMV), enquanto outras espécies da família Viperidae são mais resistentes (Jacobson, 1993).

Diversas enfermidades são causadas em serpentes, pelos seguintes grupos virais: adenovírus, herpesvírus, paramyxovírus, reovírus, picornavírus, flavovírus, retrovírus, parvovírus e iridovírus (Ackerman, 2003; Essbauer e Ahne, 2001; Hoser, 2003; Kaplan, 2003; Jacobson, 2004; Ulpge, 2005; James e April, 2005).

Em caimans dos Estados Unidos, África do Sul, Colômbia e Brasil foram diagnosticados uma dermatite causada por poxvírus, o qual apresenta um período de latência determinando o status de portador ao animal que em condições de estresse, desenvolve manifestação clínica. Segundo Francisco (1997) a sintomatologia apresentada por uma dermatite causada por poxvírus em jacarés é caracteriza por lesões circulares e esbranquiçadas espalhadas por todo o corpo e podem persistir por meses, apresentando baixa mortalidade (Francisco, 1997; Huchzermeyer, 2002; Sarkis-Gonçalves *et al.*, 2005).

Durante o ano de 2003, sete cascavéis mantidas em cativeiro no serpentário do Laboratório de Animais Peçonhentos e Toxinas (LAPT_x) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) apresentaram macroscopicamente lesões acrômicas na pele. Histopatologicamente observou-se que as escamas acrômicas apresentavam um distúrbio pigmentar caracterizado pela destruição nuclear dos melanócitos epidérmicos com conseqüente diminuição ou ausência da produção de melanina, bem como o desaparecimento da camada de cromatóforos. Tendo sido descartada a possibilidade da

acromia cutânea nas cascavéis mantidas no serpentário do LAPT_x ser causada por fungos e bactérias (Araújo, 2003), tornou-se necessário utilizar a microscopia eletrônica de transmissão para aprofundar a pesquisa a nível ultraestrutural, pois a hipótese de contaminação por vírus passou a ser considerada.

2. OBJETIVOS

Neste trabalho nos propusemos a:

2.1. Analisar macroscopicamente a evolução da acromia cutânea na pele das serpentes da subespécie *Crotalus durissus cascavella* mantidas em cativeiro na UFPE;

2.2. Investigar a possibilidade de contaminação bacteriológica entre as serpentes da subespécie *Crotalus durissus cascavella* mantidas em cativeiro na UFPE;

2.3. Comparar ultraestruturalmente as lesõesacrômicas tegumentares das serpentes da subespécie *Crotalus durissus cascavella* enfermas com escamas pretas, brancas e marrons de serpentes saudáveis da mesma subespécie.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Serpentes

Para este estudo foram utilizadas 17 serpentes da subespécie *Crotalus durissus cascavella* mantidas em cativeiro no serpentário do LAPT_x – UFPE, sendo 15 experimentais e dois controles.

Os animais do grupo controle, Rg 438 e 442 eram fêmeas adultas, procedentes de Pernambuco, coletadas em julho e agosto de 2005, medindo 119 cm e 135 cm de comprimento total, respectivamente. Os animais controles não foram mantidos em cativeiro para garantir a integridade das amostras.

Os animais experimentais (7 machos e 8 fêmeas) foram procedentes dos estados de Pernambuco, Bahia e Paraíba. No início deste trabalho, sete destes espécimes já apresentavam lesões cutâneas originadas em cativeiro (grupo B). Os oito animais experimentais que não apresentavam lesões foram reunidos no grupo A. Quatorze serpentes estavam no serpentário desde o início da pesquisa e um espécime integrou o grupo 10 meses após o início do experimento (Tabela 2). Estes animais foram acondicionados em caixas individuais de madeira (54 x 40 x 26 cm, 40 x 35 x 25 cm) com tampa frontal de vidro, para visualização interna, forradas com papel, dispostas durante todo experimento em três estantes conforme esquema da Figura 15. As serpentes foram alimentadas, mensalmente, com camundongos (*Mus musculus*), com oferta de água “*ad libidum*”. Tanto a água quanto a forração foram substituídos semanalmente. As serpentes foram submetidas a um fotoperíodo de 12 horas, mantidas a uma incidência luminosa fornecida por seis lâmpadas daylight F40D-EX, em temperatura média de 26°C e 78% de umidade relativa do ar, ambas monitoradas por um termo-higrômetro (Winner).

Tabela 2 - Dados gerais e parâmetros biométricos dos animais experimentais da subespécie *Crotalus durissus cascavella*, em julho de 2003.

Registro	Procedência	PC (anos)	Sexo	Peso (Kg)	CT (cm)	Presença de lesão cutânea	Local de manutenção dos animais
050	PE	6,08	M	0,555	112	Sim	Estante 1
137	PB	4,33	M	1,395	129	Sim	Estante 1
138	PE	4,33	M	1,305	134,5	Sim	Estante 1
148	PE	3,83	F	1,230	126	Sim	Estante 1
153	PE	3,24	F	0,330	93	Sim	Estante 1
157	PE	3,16	M	1,095	126	Sim	Estante 1
170	BA	2,99	F	0,210	94	Não	Estante 2
173	BA	2,99	F	0,335	90	Não	Estante 2
175	BA	2,99	M	0,268	90,5	Não	Estante 2
179	BA	2,99	F	0,435	99	Sim	Estante 2
185	PE	2,49	M	0,845	126	Não	Estante 2
221	PE	2,39	M	0,770	129	Não	Estante 2
244	PE	0,33	F	I	I	Não	Quarentena**
249	PE	0,15	F	I	I	Não	Quarentena**
354	PE	0*	F	I	I	Não	Quarentena**

PC: Período em cativeiro; CT: Comprimento Total; M: macho; F: fêmea; I: indeterminado;

*Chegada ao serpentário em maio de 2004. ** Animais transferidos para estante 3, em dezembro de 2004.

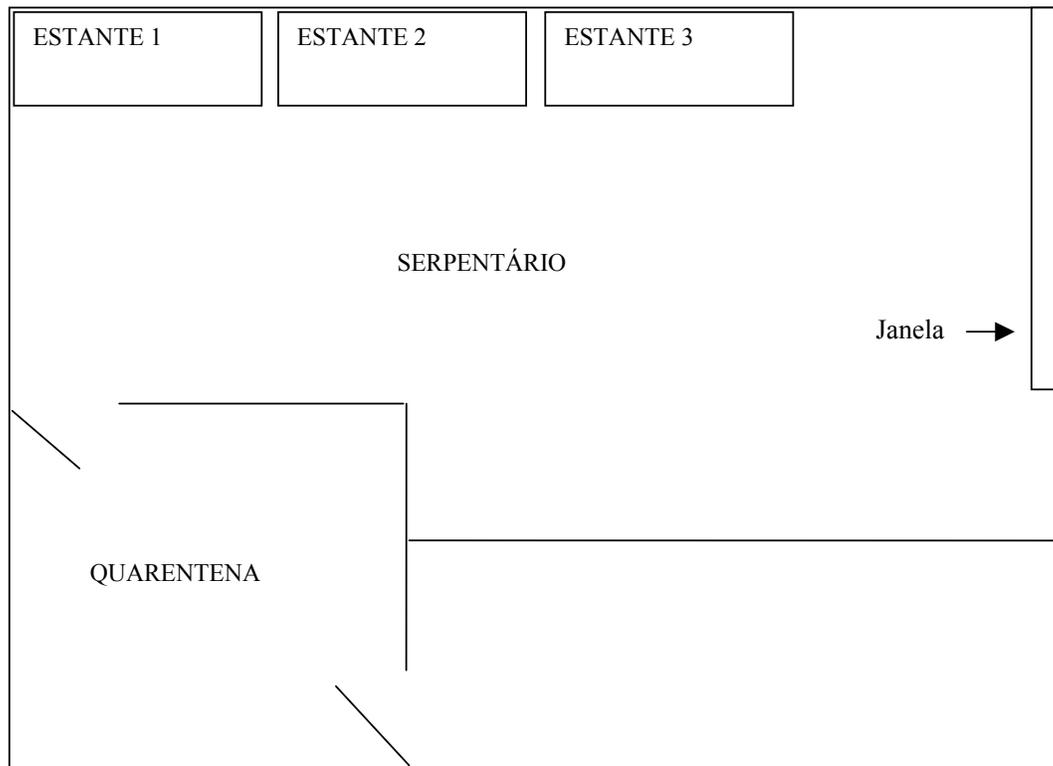


Figura 15 - Representação esquemática do serpentário e quarentena do Laboratório de Animais Peçonhentos e Toxinas da Universidade Federal de Pernambuco, onde foram mantidas as serpentes do grupo experimental .

3.2. Análise macroscópica da pele de *Crotalus durissus cascavella*

Durante o período de experimentação (julho de 2003 a agosto de 2005) foram realizadas quatro determinações dos seguintes parâmetros:

- 1) Peso dos animais, utilizando balança Filizola;
- 2) Comprimento rostro-cloacal e caudal através de fita métrica;
- 3) Arco mediano do corpo e da cauda através de fita métrica;
- 4) Número de lesões no segmento rostro-cloacal e caudal;
- 5) Comprimento e largura de cada lesão, através de paquímetro.

As lesões foram registradas através de máquina fotográfica digital Sony.

A partir dos parâmetros citados acima foram calculados:

- 1) Percentual do ganho de peso no período;
- 2) Percentual do crescimento no período;
- 3) Áreas totais das regiões rostro-cloacal (ARC) e caudal (AC) através das

equações 1 e 2.

$$ARC = 2\pi r \cdot h \quad (1)$$

$$AC = 0,5 \cdot 2\pi \cdot g \quad (2), \text{ sendo } h: \text{ altura, } r: \text{ raio e } g: \text{ geratriz.}$$

4) Áreas das lesões através da multiplicação das medidas transversais e longitudinais das lesões;

5) Percentuais das áreas lesionadas na região rostro-cloacal em relação à área da região rostro-cloacal;

6) Percentuais das áreas lesionadas na região caudal em relação à área da região caudal;

7) Percentuais das áreas lesionadas totais em relação à superfície corpórea total.

Com o objetivo de avaliar a existência de relação entre o número de lesões e o percentual de área total lesionada, entre o tempo de cativeiro e o número de lesões, entre o tempo de cativeiro e o percentual de área lesionada, bem como a localização das serpentes na estante e o número de lesões, estes dados foram analisados através da construção de curvas de correlação.

3.3. Determinação de VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) e FTA-abs (Fluorescent Treponemal Antibody Absorption) no soro das serpentes *Crotalus durissus cascavella*

As serpentes foram submetidas a coletas de sangue através de punção cardíaca (2 a 3 ml), realizadas por veterinários, no serpentário do LAPT_x. As amostras foram mantidas por 10 minutos à temperatura ambiente, centrifugadas a 2.000 rpm por cinco minutos. O soro foi utilizado imediatamente nas análises de VDRL e FTA-abs com a finalidade de identificar anticorpos treponêmicos.

Todos os exames foram realizados no Laboratório de Sorologia do Hospital das Clínicas.

Para a determinação de VDRL, as amostras de soro em análise foram colocadas em contato com a suspensão antigênica de VDRL em uma lâmina apropriada, e submetida a um processo de rotação mecânica por quatro minutos. Os resultados foram lidos no microscópio óptico Leica no aumento de 1000 vezes.

Para a determinação de FTA-abs, as amostras de soro em análise foram diluídas em Sorbent e colocadas sobre esfregaços de antígeno (Imunopallidum) já fixados em

lâminas. Em seguida, as amostras foram incubadas em câmara úmida a 37° C por 30 minutos e posteriormente lavadas duas vezes, por imersão, durante cinco minutos com tampão fosfato salino (PBS). As lâminas foram secas e incubadas, desta vez, com Fluoline e seguiu-se o mesmo procedimento assumido após a primeira incubação. Após a última lavagem, a lâmina foi montada e lida no microscópio óptico Leica no aumento de 1000 vezes.

3.4. Coleta das escamas de *Crotalus durissus cascavella* para processamento em microscopia eletrônica de transmissão

Para estabelecer o controle da malha de cascavel realizou-se a coleta de escamas de colorações diferentes (branca, preta e marrom) em duas serpentes: uma recém-chegada ao laboratório (RG 438) e outra cujas escamas foram coletadas ainda em campo (RG 442). Para estudar a lesão foram coletadas escamas acrômicas de serpentes que apresentavam os maiores números de lesões.

As serpentes foram contidas manualmente, sem necessitar de anestesia, e submetidas, com auxílio de bisturi, a um incisão superficial na ponta de uma das escamas dorsais da região mediana do corpo, sem que a pele ficasse exposta a qualquer infecção.

3.5. Processamento das escamas de *Crotalus durissus cascavella* em microscopia eletrônica de transmissão

O processamento das amostras de pele de *C. d. cascavella* iniciou-se imediatamente após a coleta das escamas. Inicialmente, as escamas foram trincadas e imersas, durante toda à noite, em fixador glutaraldeído 3% e tampão cacodilato 0,1 M.

Em seguida, as amostras foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% durante 1 hora e contrastadas em acetato de uranila 2,5% durante toda a noite. Logo após esta etapa, as amostras foram desidratadas com acetona em concentrações crescentes de 30% a 100% e iniciou-se o processo de infiltração com resina do tipo epon até o emblocamento das mesmas. Finalmente, os blocos foram submetidos a cortes com espessura de 60 nm em ultra-micrótomo Leica e as amostras contrastadas com acetato de uranila 5% e citrato de chumbo. Após o encerramento destes procedimentos as amostras estavam prontas para serem observadas no microscópio eletrônico de transmissão Zeiss EM 109 para posterior análise.

4. RESULTADOS

4.1. Aparecimento da acromia em serpentes da subespécie

Crotalus durissus cascavella

Durante o período de julho de 2003 a agosto de 2005, houve um aumento linear do número de serpentes que apresentaram lesões acrômicas tegumentares (Figura 16). Dentre os 15 animais experimentais, sete possuíam lesões no início do estudo, sete foram contaminados durante o período de avaliação e apenas um animal não apresentou lesões visíveis ao término da análise.

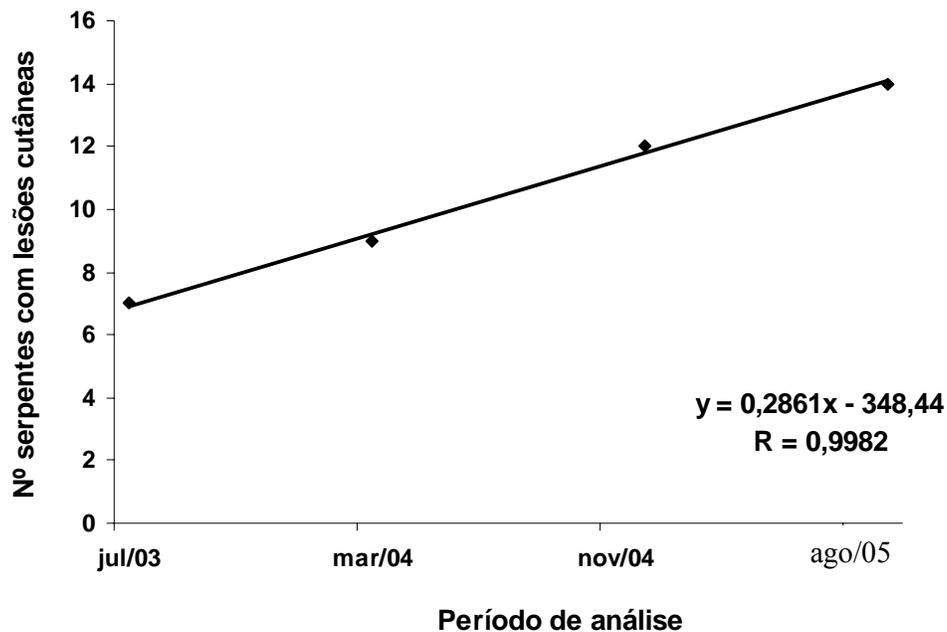


Figura 16 – Aparecimento da acromia em serpentes da subespécie *Crotalus durissus cascavella*, mantidas na UFPE, no período de julho de 2003 a agosto de 2005.

Os resultados da contagem das lesões tegumentares mostraram o aumento discreto do número de áreas afetadas nas serpentes do grupo A (início da contaminação) e um aumento significativo das lesões dos animais do grupo B (fase avançada de contaminação) (Figura 17). O número total de lesões do plantel aumentou 618% e de forma exponencial no período de julho de 2003 a agosto de 2005 (Figura 18 e Anexo 2).

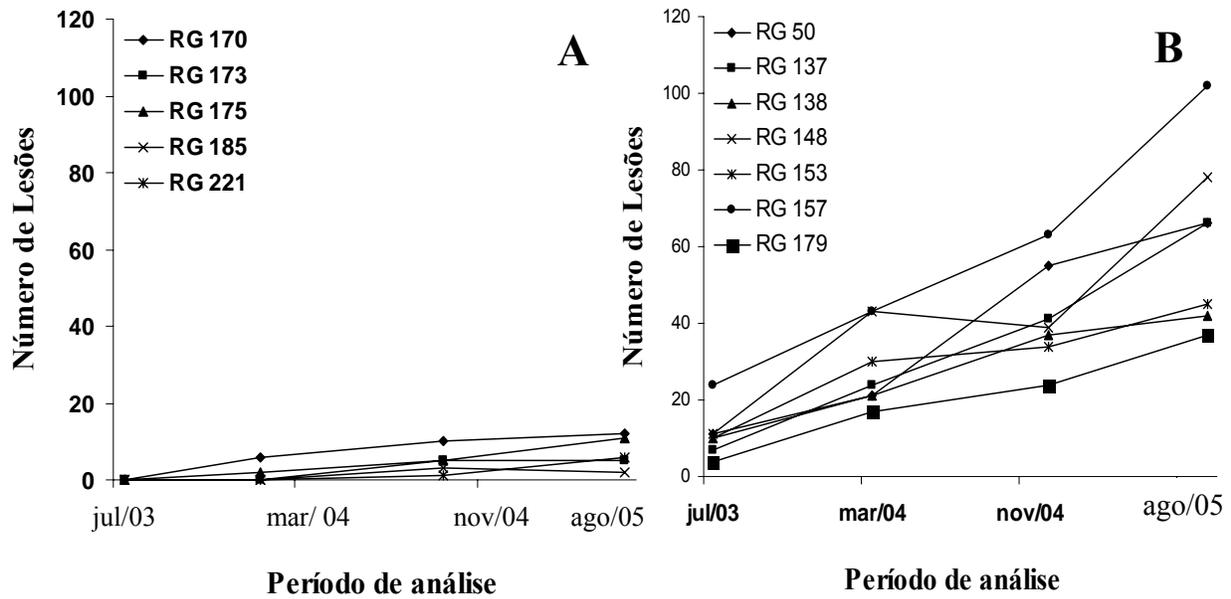


Figura 17 - Desenvolvimento de lesões acrómicas tegumentares em serpentes da subespécie *Crotalus durissus cascavella* mantidas em cativeiro na UFPE, no período de julho de 2003 a agosto de 2005. A: Serpentes sadias no início do estudo. B: Serpentes com lesões pré-existentes.

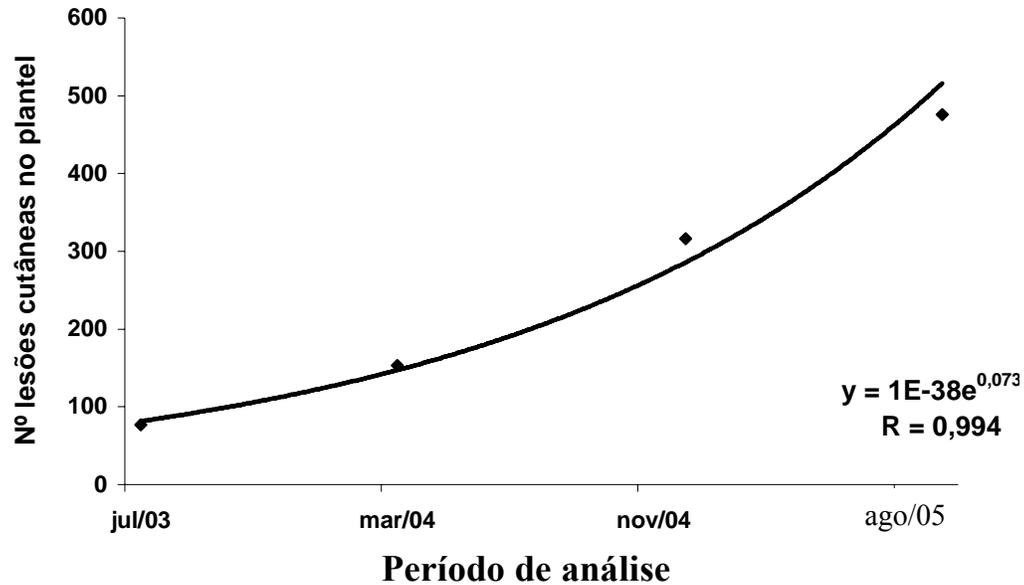


Figura 18 - Total de lesões acrómicas tegumentares no plantel de serpentes *Crotalus durissus cascavella* mantidas em cativeiro na UFPE, no período de julho de 2003 a agosto de 2005.

O número de lesões (Figura 19 e Anexo 2) e o percentual de área lesionada total (Figura 20 e Anexo 6) observados no plantel ao final do estudo, não apresentaram qualquer relação com o tempo em que as serpentes estavam mantidas em cativeiro.

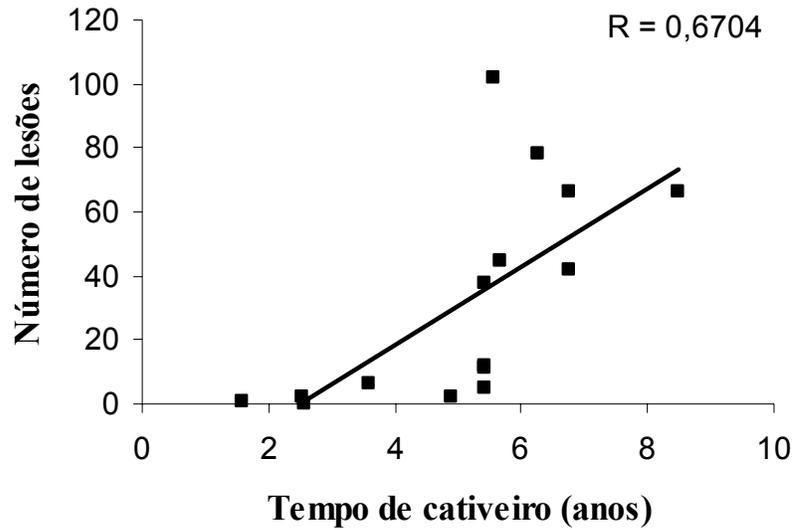


Figura 19 – Tempo de cativeiro em relação ao número de lesões nas serpentes *Crotalus durissus cascavella* no final do estudo.

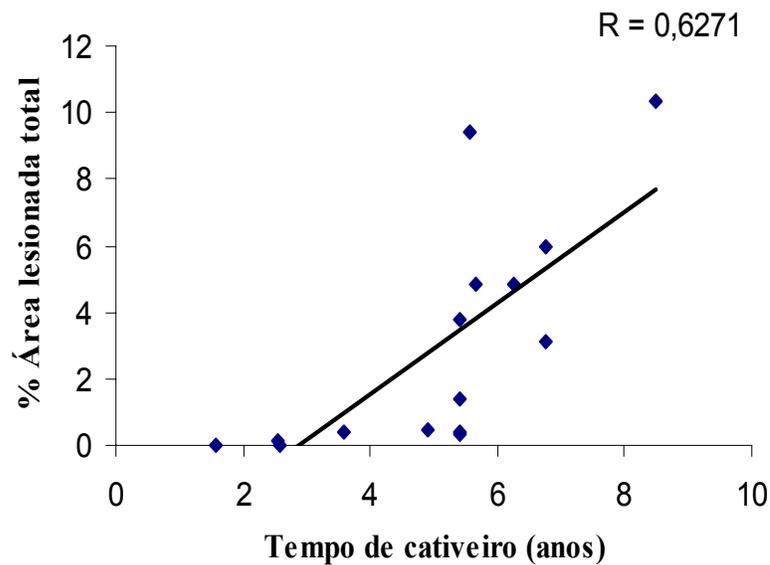


Figura 20 – Tempo de cativeiro em relação ao percentual de área lesionada total nas serpentes *Crotalus durissus cascavella* no final do estudo.

A área das lesões cutâneas das serpentes do grupo A representou 0,007% a 1,4% (0,12 cm² a 20,04 cm²) da área total da superfície corpórea dos animais ao término da análise, enquanto no grupo B (contaminação em estágio avançado) esta área atingiu 3,1% a 10,4% (82,72 cm² a 207,76 cm²) (Anexos 3 e 4). O aumento da área cutânea lesionada nas serpentes foi proporcional ao aumento do número de lesões cutâneas no período avaliado, para ambos os grupos (Figura 21 e 22).

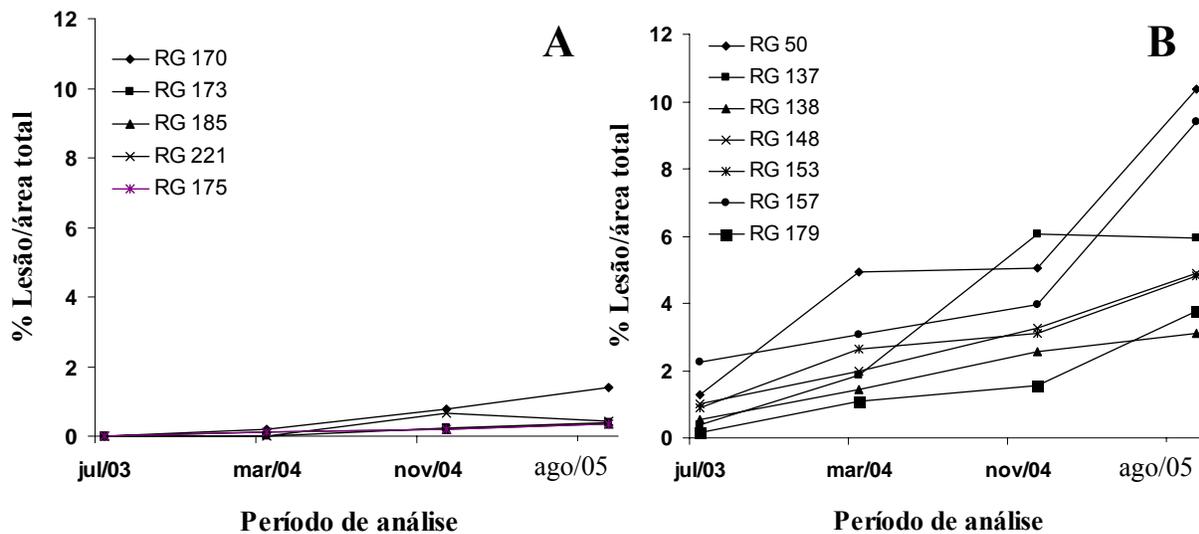


Figura 21 - Comprometimento percentual da pele das serpentes *Crotalus durissus cascavella* com lesões acrômicas no período de julho de 2003 a agosto de 2005. A: Serpentes sadias no início do estudo. B: Serpentes com lesões pré-existentes.

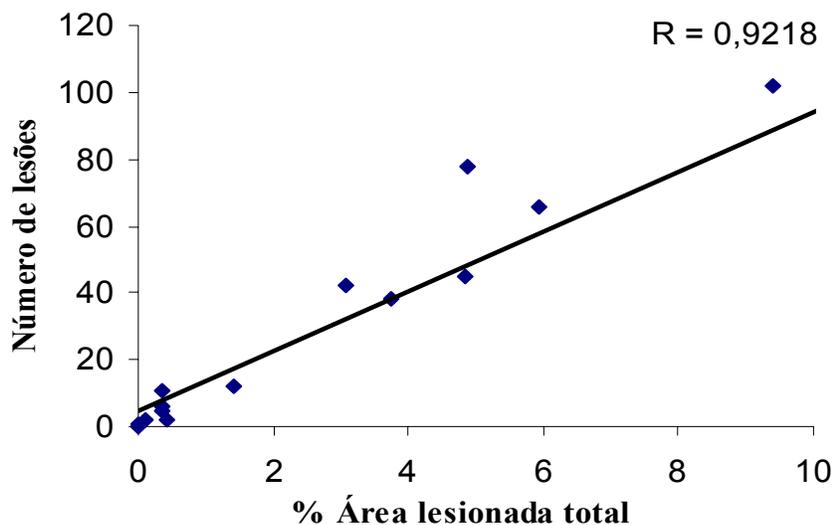


Figura 22 – Percentual da área lesionada total nas serpentes *Crotalus durissus cascavella* em relação ao número de lesões existentes no plantel ao final do estudo.

As lesões se distribuíram nas regiões dorsal e ventral das serpentes, tanto na região rostro-cloacal quanto na caudal, contudo a maioria das lesões foi observada no dorso da região rostro-cloacal (Anexo 2).

Com relação à localização das novas lesões, constatou-se que na região rostro-cloacal o número de áreas atingidas cresceu progressivamente (Anexo 2, Figura 23). Já na região caudal, apenas um espécime (Rg 153) apresentou crescimento contínuo da área lesionada enquanto todos os outros mostraram, em algum momento das análises, a redução do tamanho das lesões nesta região (Anexo 5, Figura 24). É importante destacar que os dados referentes ao Rg 185 devem ser desconsiderados tendo em vista que a diminuição no número de lesões ocorreu em virtude da coleta de uma biópsia para análise microscópica (Anexo 2).

Os resultados apresentados no anexo 2 evidenciam que durante todas as análises realizadas, o maior número de lesões manteve-se na região rostro-cloacal, tendo sido esta também a localização das lesões iniciais nos espécimes contaminados no decorrer do estudo (grupo A). Nenhum destes animais apresentou lesões caudais no decorrer do presente trabalho.

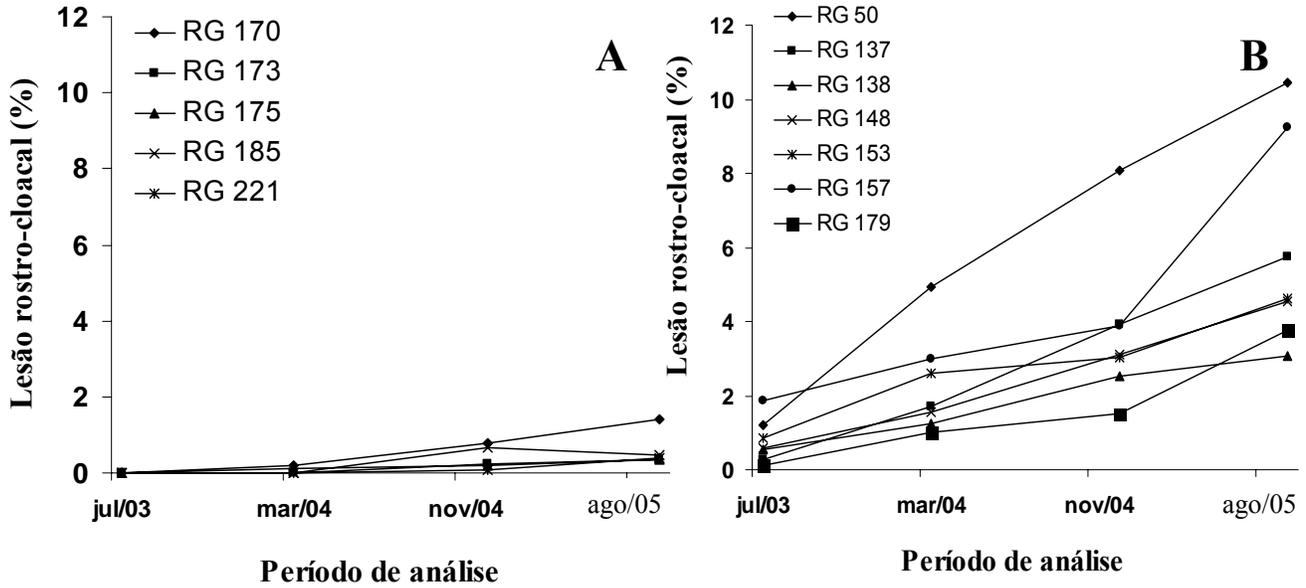


Figura 23 - Comprometimento percentual da pele na região rostro-cloacal das serpentes *Crotalus durissus cascavella* com lesões acrômicas no período de julho de 2003 a agosto de 2005.
 A: serpentes sadias no início do estudo. B: Serpentes com lesões pré-existentes

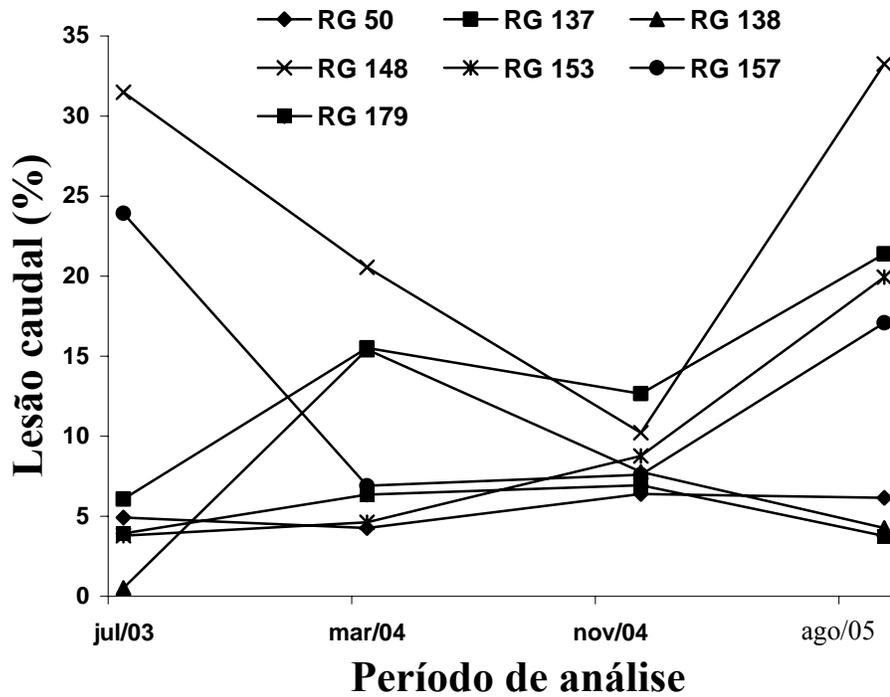


Figura 24 - Comprometimento percentual da pele na região caudal das serpentes pertencentes ao grupo B (com lesões acrômicas pré-existentes) no período julho de 2003 a agosto de 2005.

Os resultados mostraram que as lesões surgem, em média, com 0,45 cm². O acompanhamento do crescimento médio das primeiras lesões observadas nas serpentes do grupo B ocorreu de forma linear (Figura 25). A maior lesão foi observada no animal Rg 50, com 20,70 cm², porém a média de área de cada lesão ao término da pesquisa, no grupo B, foi 7,7 cm² (Anexo 7).

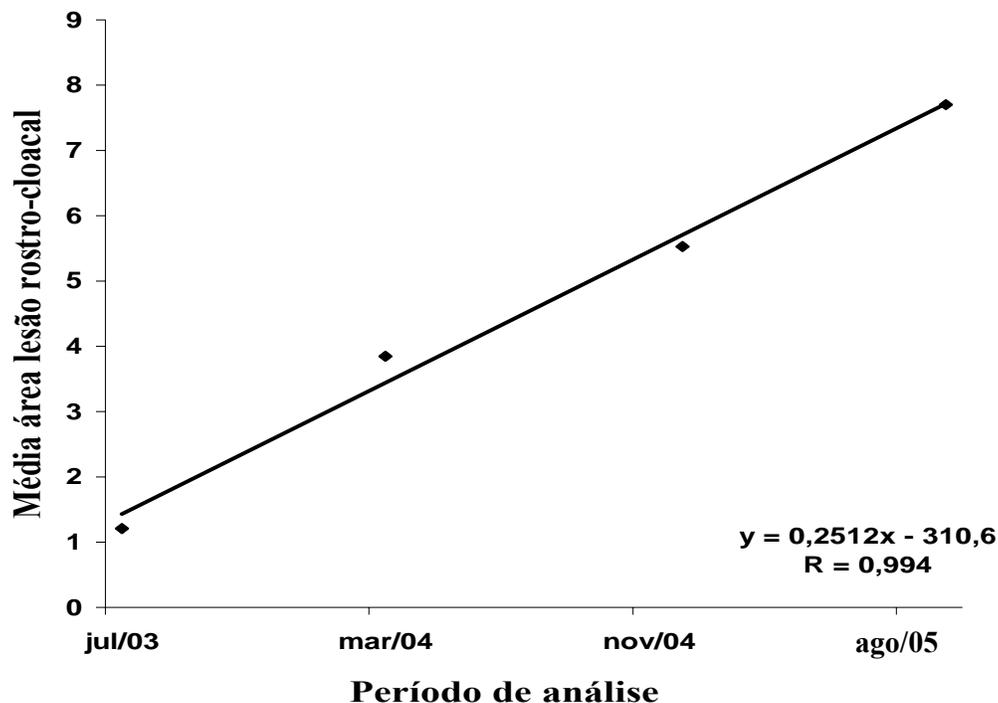


Figura 25 - Média da área das primeiras lesões rostro-cloacais das serpentes pertencentes ao grupo B (com lesões acrômicas pré-existent) no período julho de 2003 a agosto de 2005.

Durante todo o estudo, as cascavéis pertencentes ao grupo A demonstraram um ganho de peso entre 21,4% a 207,1%, enquanto nos animais do grupo B esta variação foi de 53,2% a 164% (Anexo 8). O aumento de peso foi acompanhado por uma taxa de crescimento que variou entre 2,5% a 25,5% nas serpentes do grupo A e 2,4% a 30,1% entre as serpentes do grupo B (Anexo 9).

Embora a pele das serpentes do grupo experimental esteja sendo gradativamente comprometida pelas lesões acrômicas tegumentares, estas não influenciaram no

aumento de peso (Figura 26), nem na taxa de crescimento corpóreo dos animais (Figura 27).

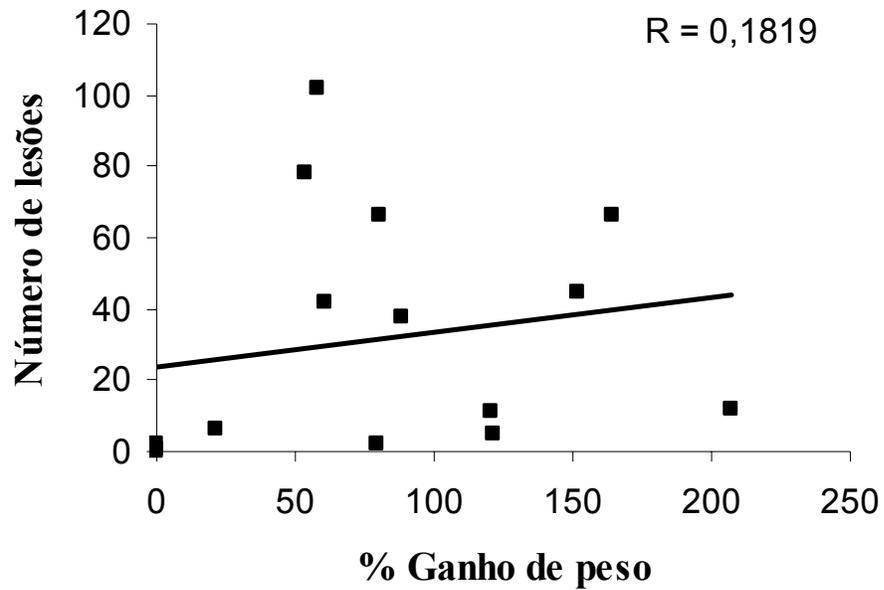


Figura 26 – Percentual do ganho de peso nas serpentes *Crotalus durissus cascavella* em relação ao número de lesões existentes no plantel ao final do estudo.

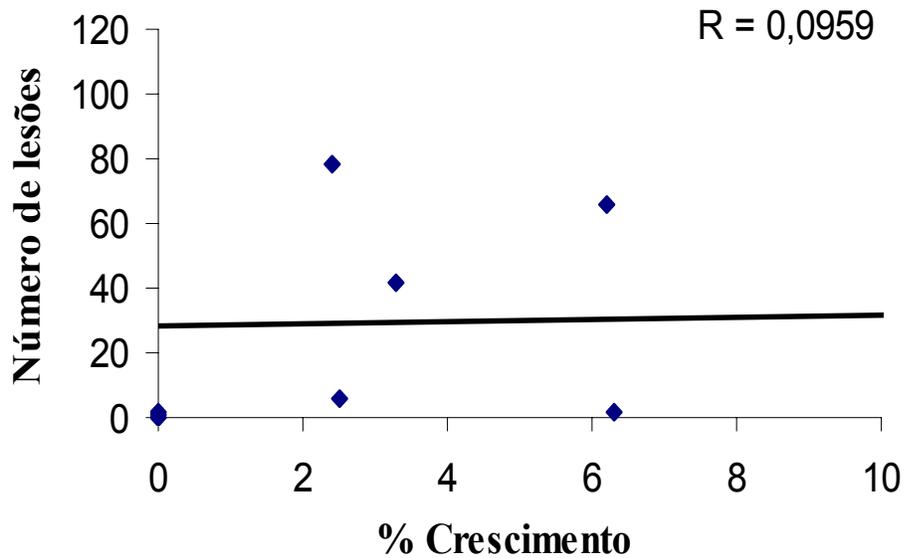


Figura 27 – Percentual de crescimento nas serpentes *Crotalus durissus cascavella* em relação ao número de lesões existentes no plantel ao final do estudo.

4.2. Evolução da acromia na pele de *Crotalus durissus cascavella*

Na pele dos animais do grupo experimental, principalmente, nas escamas localizadas na cabeça, as lesões acrômicas tegumentares originaram-se pela borda externa das escamas, bem como na região de dobradiça (entre escamas) expandindo-se horizontalmente para outras escamas adjacentes aumentando assim a área afetada.

As escamas lesionadas apresentavam-se esbranquiçadas, conservando sua integridade e exibindo brilho e textura semelhantes às escamas sadias, entretanto as lesões acrômicas demonstraram diferentes expressões pigmentares em seu estágio inicial.

Algumas lesões inicialmente hipocrômicas tornaram-se gradativamente acrômicas (Figura 28), enquanto outras apresentaram inicialmente uma hiperacromia que progredia até o aparecimento da acromia na região central da lesão (Figura 29).

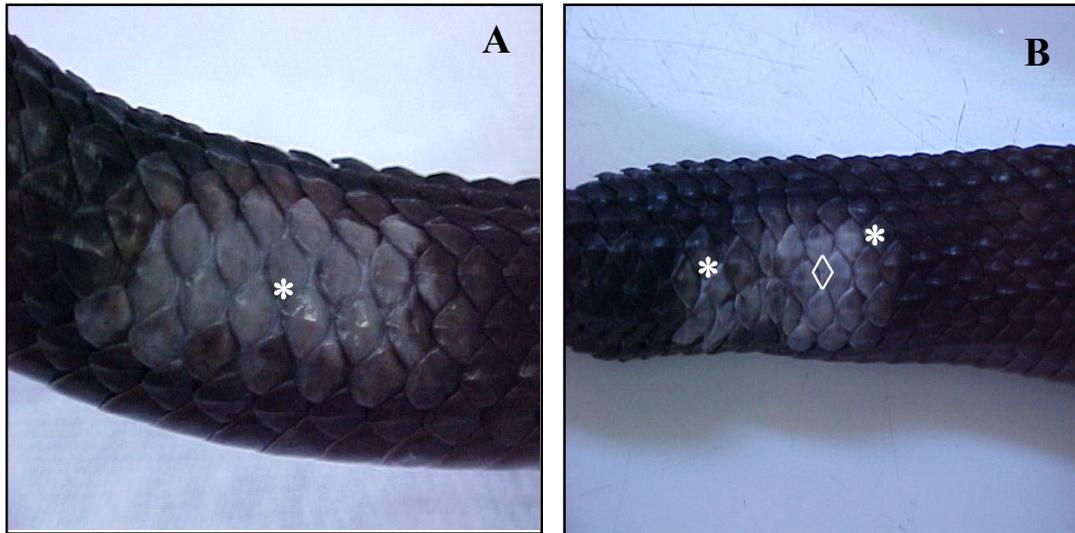


Figura 28 - Aspecto hipocrômico de uma lesão cutânea de *Crotalus durissus cascavella*.
A) Hipocromia no estágio inicial da lesão (*). B) Hipocromia nas bordas da lesão (*) e acromia no centro (◊) (Foto: A) Larrazabal, M.E.; B) Ramos, C.C.).



Figura 29 - Aspecto hipercrômico de uma lesão cutânea de *Crotalus durissus cascavella*. Hiperchromia nas bordas (□) e acromia no centro (◇) (Foto: Valença, R).

4.3. Distribuição das lesões tegumentares em *Crotalus durissus cascavella* em relação à disposição das serpentes nas estantes do serpentário.

Após analisar a presença de lesões tegumentares em relação à disposição das caixas de contenção das serpentes em estantes no serpentário do LAPT_x, foi possível relacionar o número de lesões nas serpentes e sua localização nas estantes (Figura 30).

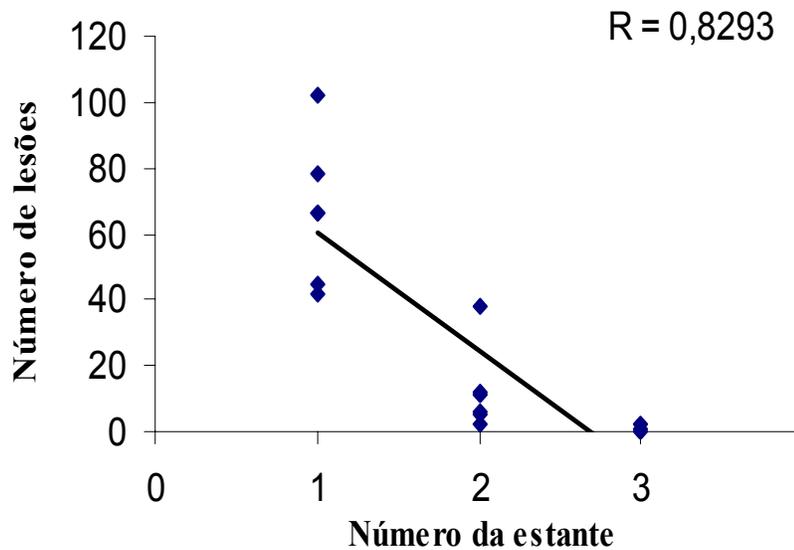


Figura 30 – Relação entre o número de lesões e a localização das serpentes *Crotalus durissus cascavella* nas estantes do serpentário do LAPT_x.

No início do estudo as serpentes do grupo B (com lesões pré-existentes) estavam acondicionadas nas caixas mantidas na estante 1 (seis espécimes) e na estante 2 (um espécime). As análises mostraram que as duas serpentes sadias que primeiro apresentaram indícios de contaminação foram aquelas mantidas na estante 2, seguidas de outros três espécimes também mantidos na estante 2 e, por fim, de uma serpente localizada na estante 3. Além disso, uma serpente mantida na quarentena por 11 meses, apresentou sinais de contaminação. Apenas um único espécime, mantido há 25 meses em caixa localizada na estante mais próxima da entrada de ar do serpentário, não apresentou lesões acrômicas cutâneas.

Sendo assim, os resultados revelam que a acromia desenvolve-se a partir das serpentes mantidas na estante 1 expandindo-se para as demais.

4.4. Determinação de VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) e FTA-abs (Fluorescent Treponemal Antibody Absorption) no soro das serpentes *Crotalus durissus cascavella*

Os resultados dos exames sorológicos (VDRL e FTA-abs) para detecção de anticorpos treponêmicos no soro das serpentes foram todos negativos.

4.5. Aspectos ultraestruturais da pele de *Crotalus durissus cascavella*

De acordo com a coloração da escama controle analisada, alguns aspectos ultraestruturais apresentaram variações: na epiderme, a) quanto à presença, densidade, dispersão e o estado de melanogênese dos melanócitos com diferentes eletrodensidades citoplasmáticas, b) dentritos melanocíticos, c) melanosomos; e na derme, a) quanto à presença e densidade de melanócitos, b) dentritos melanocíticos, c) melanosomos e d) guanóforos.

Dentre as escamas analisadas, foi possível observar na epiderme da escama preta uma grande densidade de melanócitos, os quais apresentavam núcleo e ilhas de heterocromatina, abundantes dentritos melanocíticos e diversos melanosomos. Na região dérmica também foi detectada grande densidade de melanócitos com pseudópodos apresentando polimorfismo nuclear, onde a maioria apresentava núcleos alongados com ilhas de heterocromatina, numerosos dentritos melanocíticos e melanosomos distribuídos horizontalmente formando uma camada contínua na derme superior, abundantes feixes de colágeno e ausência de guanóforos (Figura 31 e Tabela 3).

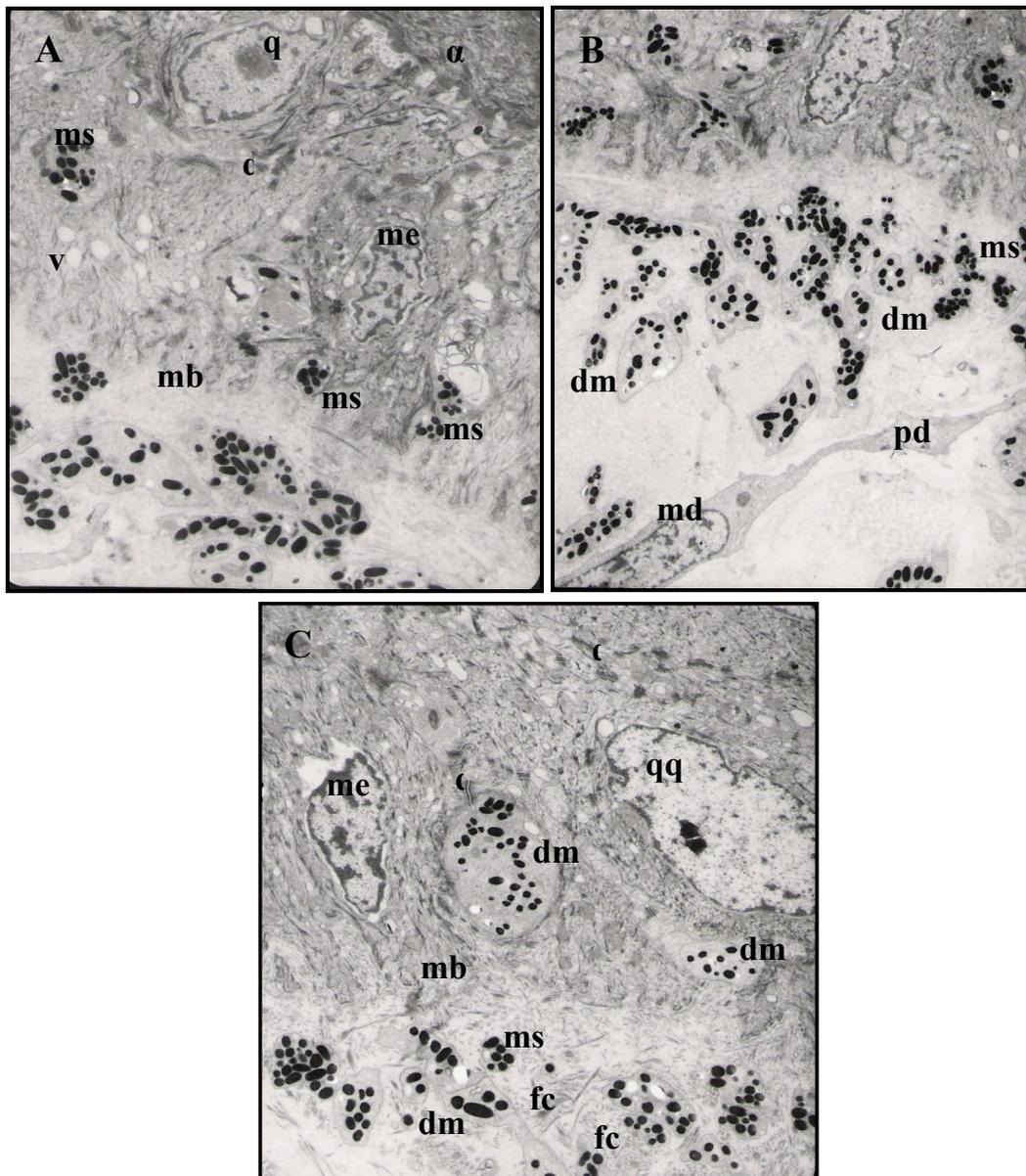


Figura 31 (A-C) – Eletromicrografias da escama controle preta de *Crotalus durissus cascavella*. **A** – Epiderme rica em células: presença de queratina (α), queratinócitos (q) apresentando núcleo com nucléolo e cromatina periférica, melanócito epidérmico (me) apresentando núcleo com ilhas de heterocromatina, melanossomos (ms), desmosossomos (d), vacúolos (v) e membrana basal (mb) com hemidesmosossomos e prolongamentos (3.000x). **B** - Derme rica em dendritos melanocíticos (dm) e melanossomos (ms), melanócito dérmico (md) apresentando núcleo alongado com ilhas e heterocromatina e pseudópodo (pd) (3.000x). **C** – Região epidérmica apresentando melanócito epidérmico (me) com ilhas de cromatina, queratinócito (qq) em estágio de queratinização, dendritos melanocíticos (dm), limitada pela membrana basal (mb) com prolongamentos e hemidesmosossomos. Na região dérmica superior, distribuída horizontalmente, uma grande quantidade de dendritos melanocíticos (dm) e melanossomos (ms). Presença dos feixes de colágeno (fc) em cortes longitudinais e transversais (4.400x).

Nas regiões epidérmica e dérmica da escama controle marrom de *C. d. cascavella* foi possível visualizar a presença de cromatóforos mosaicos contendo pterinossomos e melanossomos. A quantidade de melanócitos epidérmicos e dérmicos, dentritos melanossômicos e melanossomos presentes era inferior a existente na escama preta, contudo, apenas na derme estavam presentes os guanóforos em uma densidade semelhante à de melanossomos existentes na escama avaliada. (Figura 32 - 33 e Tabela 3).

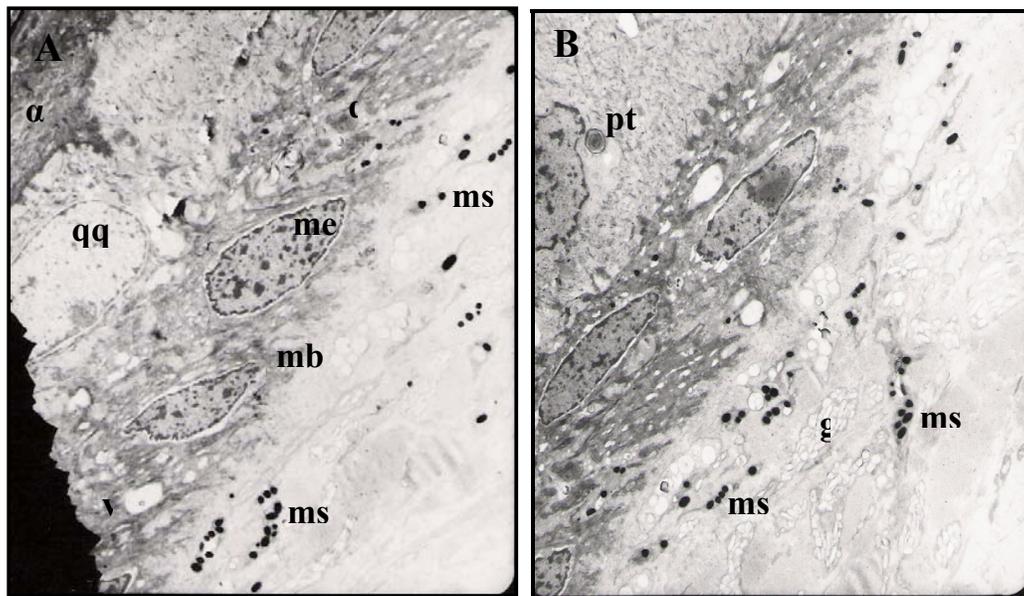


Figura 32 (A-B) - Eletromicrografias da escama controle marrom de *Crotalus durissus cascavella*. **A** – Epiderme rica em células, presença de queratina (α), queratinócito (qq) em estágio de queratinização, melanócitos epidérmicos (me) apresentando núcleo com ilhas de heterocromatina, melanossomos (ms), desmosossomos (d), vacúolos (v) e membrana basal (mb) (3.000x). **B** – Na epiderme: presença de um pterinossomo. Na derme, presença de poucos melanossomos (ms), e de guanóforos (g) (3.000x).

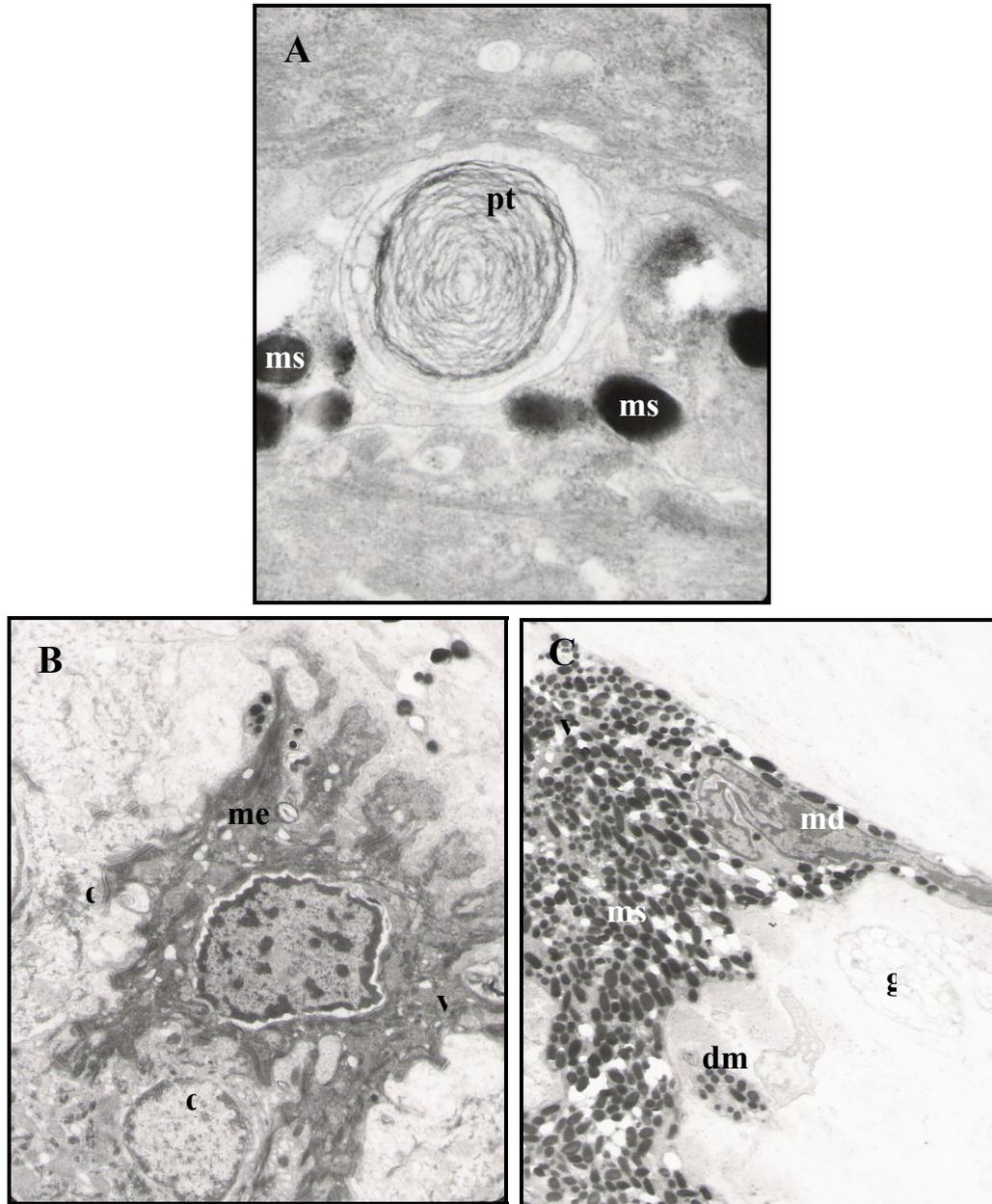


Figura 33 (A-C) - Eletromicrografias da escama controle marrom de *Crotalus durissus cascavella*. **A** – Dendrito melanocítico englobando um pterinossomo (pt) e melanossomos (ms). (30.000x). **B** – Detalhe de um melanócito epidérmico (me) exibindo prolongamentos citoplasmáticos, citoplasma denso apresentando vacúolos (v), núcleo com heterocromatina periférica com algumas ilhas, presença de queratinócito (q) com heterocromatina periférica, melanossomos (ms) e desmosomos (d) (7.000x). **C** - Detalhe de um melanócito dérmico (md) com núcleo apresentando nucléolo e heterocromatina dispersa, em estado avançado de melanogênese apresentando em seu citoplasma diversos melanossomos (ms) agregados, vacúolos (v). Presença de dendrito melanocítico (dm) e guanóforos (g) (4.400x).

Na epiderme da escama controle branca de *C. d. cascavella*, observou-se raros melanócitos epidérmicos desprovidos de melanossomos; um complexo amorfo aparentemente formado por acúmulo de gordura; células basais com núcleos de tamanhos variados; ausência de dentritos melanossômicos e melanossomos. Na região dérmica foram vistos raros melanócitos dérmicos desprovidos de melanossomos, ausência de dentritos melanossômicos e melanossomos, e a maior densidade de guanóforos quando comparadas às escamas preta e marrom (Figura 34 – 35 e Tabela 3).

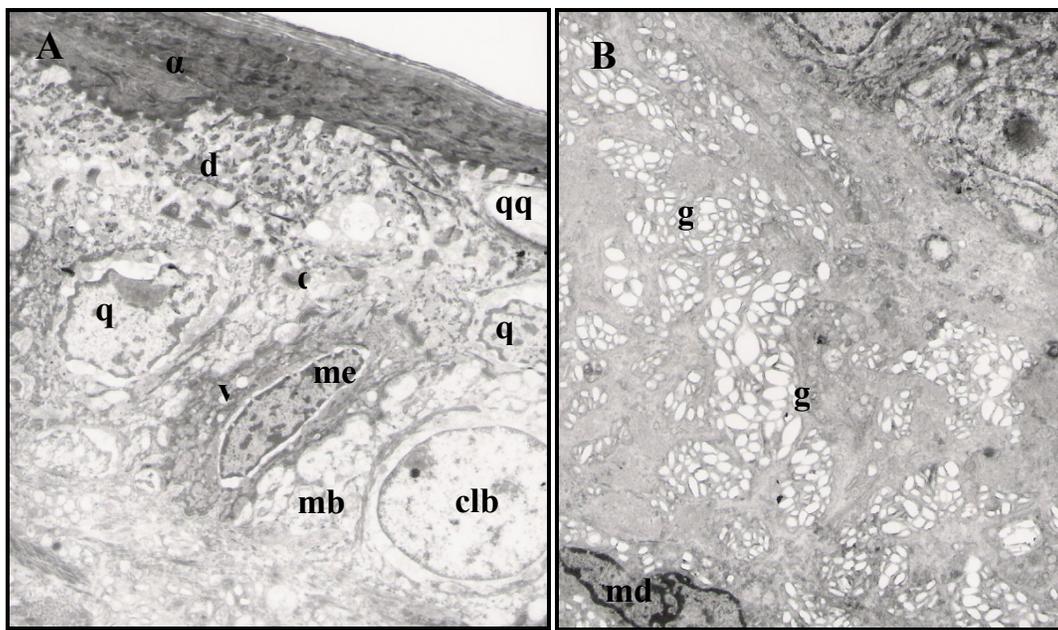


Figura 34 (A-B) - Eletromicrografias da escama controle branca de *Crotalus durissus cascavella*. **A** – Epiderme rica em células, presença de queratina (α), queratinócito (q) apresentando núcleo com nucléolo e cromatina periférica, queratinócitos (qq) em estágio de queratinização, célula basal (clb) com núcleo volumoso, desmosomos (d) entre as células, melanócito epidérmico (me) apresentando núcleo com ilhas de heterocromatina e vacúolos (v), membrana basal (mb) com prolongamentos e hemidesmosomos (4.400x). **B** – Na derme, região rica em guanóforos (g), melanócito dérmico raro (md) desprovido de grânulos de melanina (3.000x).

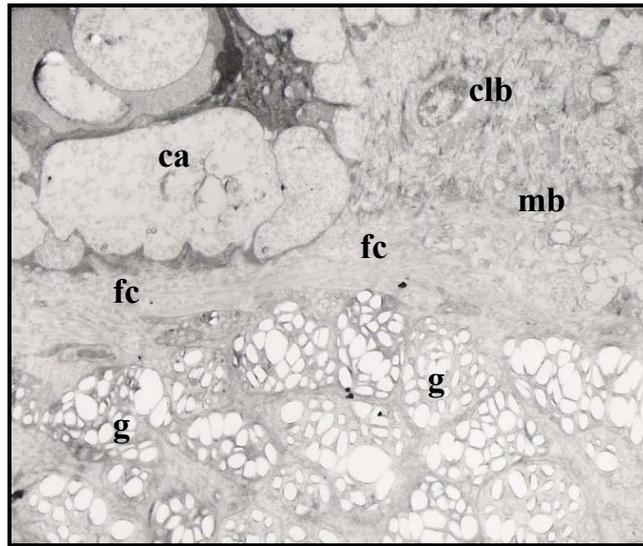


Figura 35 - Eletromicrografias da escama controle branca de *Crotalus durissus cascavella*. Na região epidérmica há presença de célula da camada basal (clb) com núcleo reduzido, um complexo amorfo (ca), membrana basal (mb) com suaves prolongamentos. Região dérmica há diversos feixes de colágeno (fc) e vários guanóforos (g) (3.000x).

As escamas controles de diferentes cores apresentaram algumas características ultraestruturais semelhantes: na epiderme, a) presença de uma membrana basal formada por prolongamentos direcionados a derme; b) presença de hemidesmossomos unindo a membrana basal às células da camada basal, as quais apresentavam núcleos volumosos e alongados; c) presença de desmossomos unindo as células da camada basal, bem como os queratinócitos das demais camadas do estrato germinativo; d) vacúolos intra e extramelanocíticos; e) queratinócitos normais com nucléolo e com cromatina periférica e outros em processo de queratinização, os quais já demonstravam a perda gradativa do núcleo; f) presença da camada de queratina; e na derme: a) presença de diversos feixes de colágeno e b) fibras nervosas mielínicas (Figura 36 e Tabela 3).

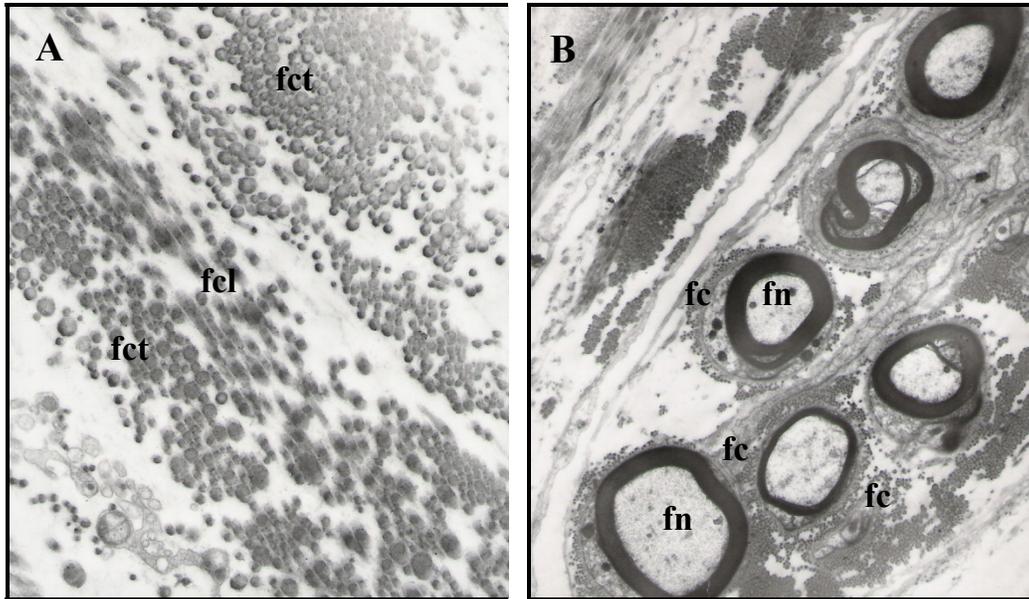


Figura 36 – Aspectos ultraestruturais da região dérmica de *Crotalus durissus cascavella*: A) Feixes de colágeno em cortes longitudinal (fcl) e transversal (fct) (7.000x); B) Fibras nervosas miélinicas (fn) em corte transversal rodeados por feixes de colágeno (fc) (4.000x).

As observações ultraestruturais das escamas acrômicas de *C. d. cascavella* revelaram na epiderme: 1) áreas epidérmicas parcial ou completamente destruídas; 2) células basais com núcleos volumosos, porém com cromatina em processo de destruição evidenciando corpúsculos de inclusão intranucleares e diversas partículas intranucleares e intracitoplasmáticas; 3) grande quantidade de células basais e queratinócitos anucleados limitados por suas membranas plasmáticas contendo diversas partículas intracitoplasmáticas, as quais estão restritas exclusivamente a região epidérmica; 4) melanócitos epidérmicos em diferentes estágios degenerativos; 5) presença de raros dentritos melanossômicos e melanossomos epidérmicos; na derme observou-se: 1) a presença de melanócitos dérmicos em diferentes estágios degenerativos, alguns com condensação da cromatina conservando melanossomos no citoplasma, outros com rompimento de membrana citoplasmática e derrame de todo conteúdo intracitoplasmático; 2) muitos feixes de colágeno; 3) poucos dentritos melanossômicos

e melanossomos; 4) presença de guanóforos e a presença de cromatóforos mosaicos apresentando organelas características de melanóforo (melanossomos) e eritróforos ou xantóforos (pterinossomos) (Figura 37 - 40 e Tabela 3).

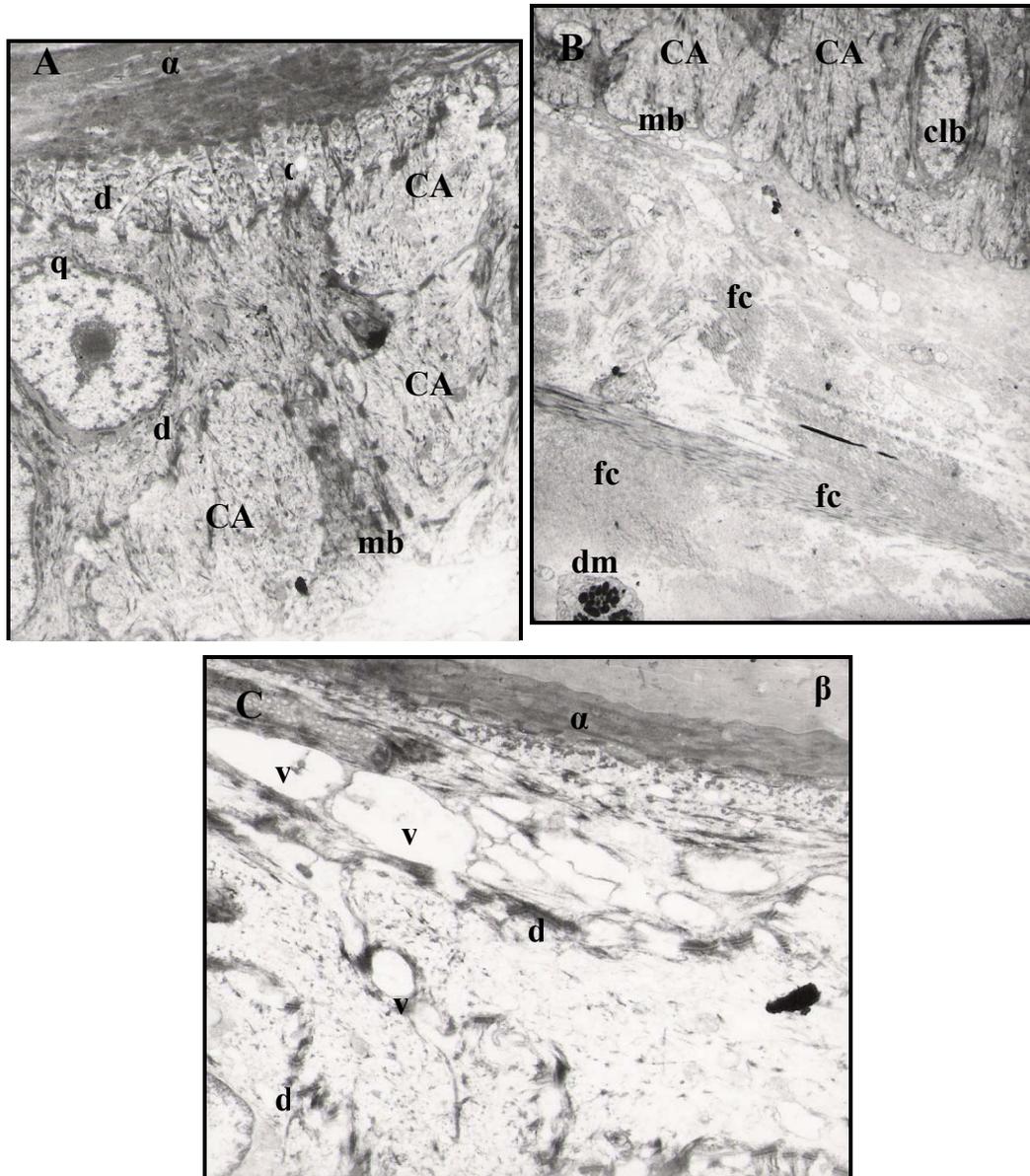


Figura 37 (A-C) - Eletromicrografias da escama acrômica de *Crotalus durissus cascavella*. **A** – Epiderme com presença de queratina (α), presença de uma camada espessa apresentando queratinócito (q) com núcleo, nucléolo e cromatina dispersa, presença de várias células anucleadas (CA) conservando apenas as membranas plasmáticas (3.000x), desmossomos (d) entre as células e membrana basal (mb) com suaves prolongamentos direcionados a derme. **B** – Epiderme com presença de célula da camada basal (clb) em processo de degeneração ao lado outras células anucleadas (CA) e membrana basal (mb) apresentando prolongamentos. Na derme, presença de muitos feixes de colágeno (fc), dendritos melanossômicos (dm) com grânulos de melanina condensados (3.000x). **C** – Região epidérmica com evidencia de queratina

beta (β) e alfa (α), camada germinativa totalmente deformada, apresentando desmossomos (d) e vários vacúolos (v). (7.000x).

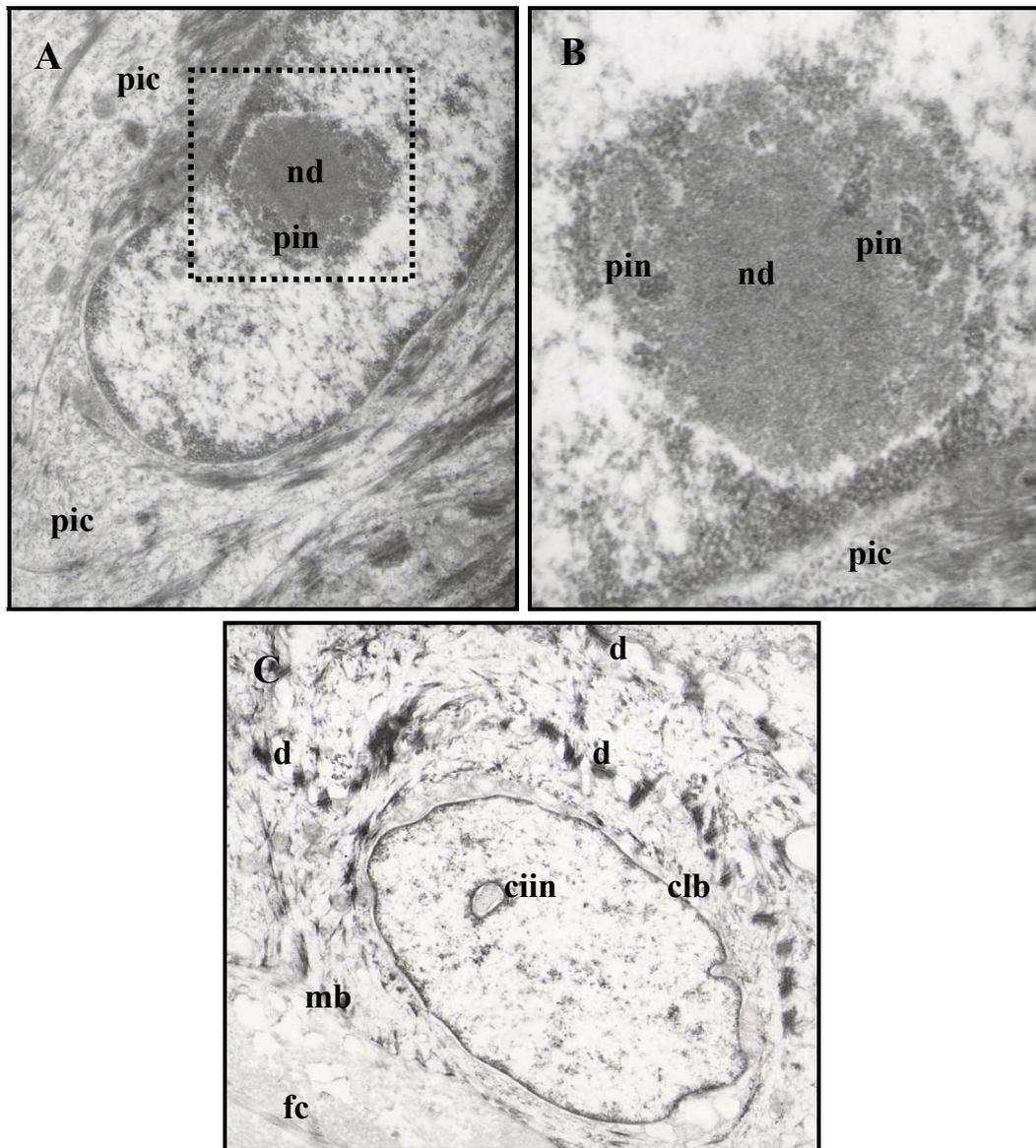


Figura 38 (A-C) - Eletromicrografias da escama acrômica de *Crotalus durissus cascavella*. **A** – Célula basal em início de degeneração exibindo partículas intranucleares (pin) eletrodensas no interior do nucléolo danificado (nd) e diversas partículas intracitoplasmáticas (pic). (12.000x). **B** - Aumento da área selecionada em **A** para melhor identificação das partículas intranucleares (pin) eletrodensas no interior do nucléolo danificado (nd) e algumas partículas intracitoplasmáticas (pic). (30.000x). **C** – Detalhe de uma célula basal com núcleo volumoso e alongando, evidenciando um corpúsculo de inclusão intranuclear (ciin), apresentando ainda várias partículas, presença de desmossomos (d), membrana basal (mb) e feixes de colágeno (fc). (7.000x).

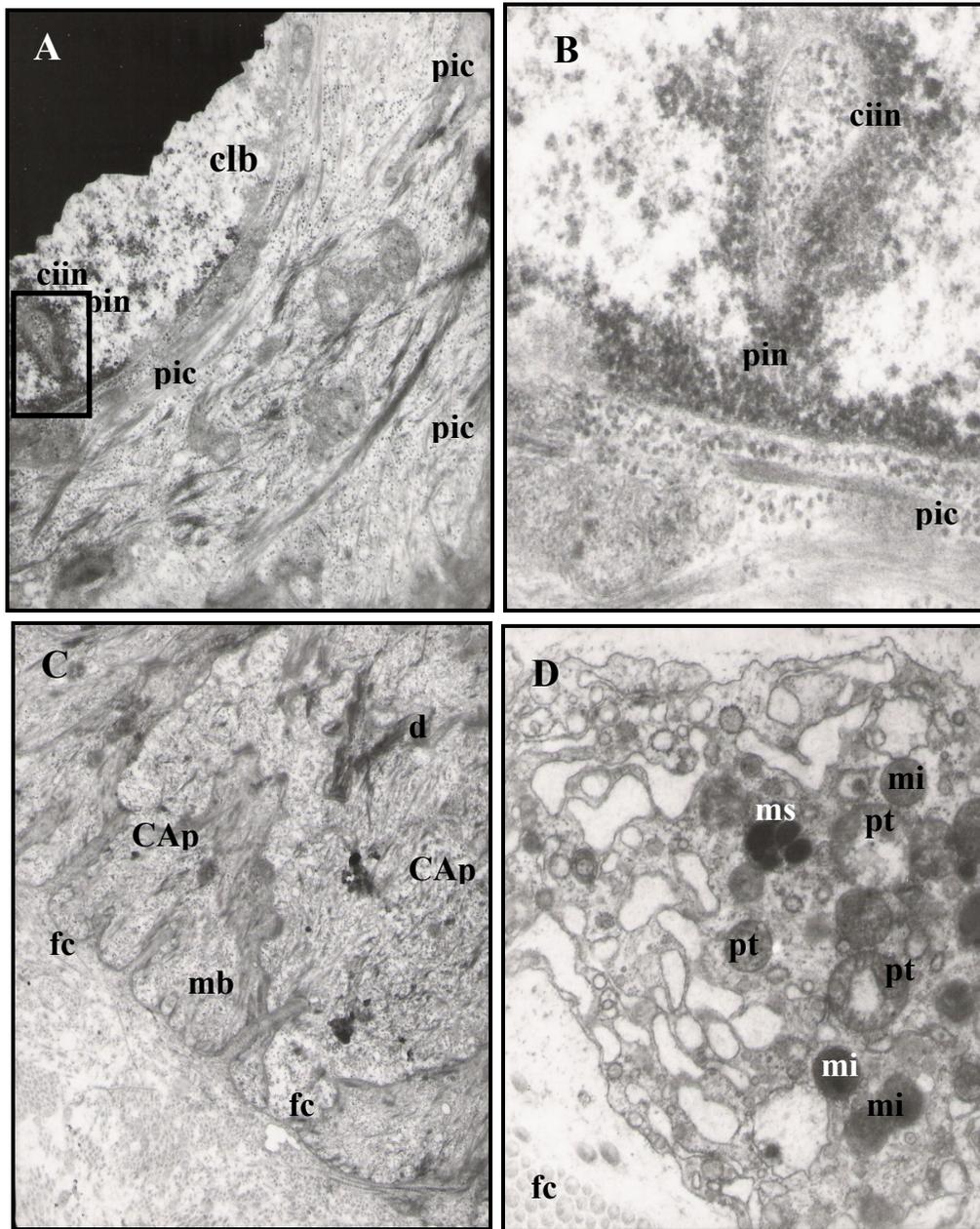


Figura 39 (A-D) - Eletromicrografias da escama acrômica de *Crotalus durissus cascavella*. **A** – Parte de uma célula da camada basal (clb) evidenciando um corpúsculo de inclusão intranuclear (ciin), partículas intranucleares (pin) e intracitoplasmáticas (pic). (12.000x). **B** – Ampliação da área selecionada em **G** para visualizar detalhadamente o corpúsculo de inclusão intranuclear (ciin) preenchido por várias partículas, a presença de partículas intranucleares (pin) e intracitoplasmáticas (pic). (50.000x). **C** – Região epidérmica espessa com várias células anucleadas com numerosas partículas intracitoplasmáticas (CAp) que conservam apenas suas membranas plasmáticas ligadas entre si por desmossomos (d), membrana basal (mb) com prolongamentos. Na derme vários feixes de colágeno (fc). (7.000x). **D** – Detalhe de um cromatóforo mosaico apresentando mitocôndrias (mi), melanosomos (ms) e pterinosomos (pt). Presença de feixes de colágeno (fc) (12.000x).

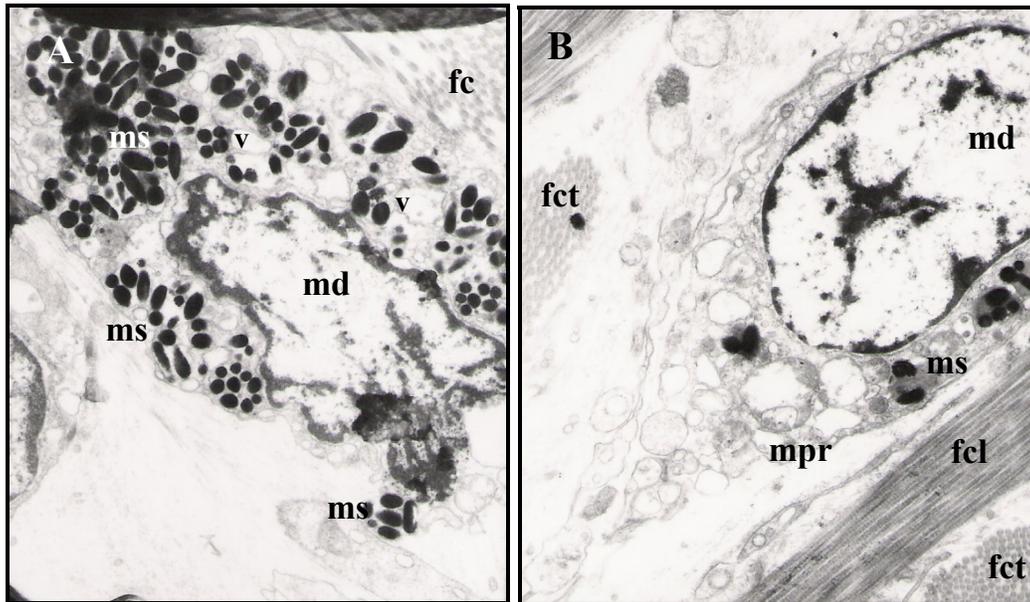


Figura 40 (A-B) - Eletromicrografias da escama acrômica de *Crotalus durissus cascavella*. **A** – Melanócito dérmico (md) danificado em estágio inicial de degeneração apresentando núcleo com cromatina condensada e citoplasma com vários melanossomos (ms) e vacúolos (v). Nota-se a presença de feixes de colágeno (fc). (7.000x). **B** – Parte de um melanócito dérmico (md) apresentando núcleo com cromatina condensada e membrana plasmática rompida (mpr) liberando conteúdo citoplasmático, inclusive melanossomos (ms). Nota-se a presença de feixes de colágeno em corte longitudinal (fcl) e transversal (fct) (7.000x).

Quando comparados os aspectos ultraestruturais das escamas controle e acrômicas de *C. d. cascavella* constatou-se que os melanócitos epidérmicos e dérmicos, as células basais e os queratinócitos são os tipos celulares mais severamente atingidos. Nas escamas acrômicas, os raros dentritos melanossômicos e melanossomos existentes vão gradativamente desaparecendo. Neste aspecto, a escama acrômica tende a assemelhar-se ultraestruturalmente a escama branca controle (Tabela 3).

As observações ultraestruturais da escama acrômica de *C. d. cascavella* revelaram a existência de um processo degenerativo iniciado nos núcleos das células basais, nos quais foram observados partículas intranucleares eletrodensas. Estas partículas originaram corpúsculos de inclusão intranucleares repletos de outras

partículas que foram liberadas no citoplasma das células atingidas. Na etapa seguinte, estas células tornaram-se anucleadas, com diversas partículas intracitoplasmáticas que, provavelmente, passaram para as células adjacentes através das membranas plasmáticas ainda preservadas. Em estágio mais avançado da acrômia, as membranas plasmáticas das células anucleadas apresentam sinais de degeneração e a formação de diversos vacúolos epidérmicos de diferentes tamanhos (Tabela 3).

Especialmente nos melanócitos dérmicos, ao contrário do que ocorre nas células epidérmicas, observou-se que o processo degenerativo provoca, inicialmente, a condensação da cromatina e o rompimento da membrana citoplasmática com conseqüente derrame do conteúdo intracitoplasmático. A quantidade de feixes de colágeno na derme das escamas acrômicas foi superior a encontrada nas escamas controle. Aparentemente, os guanóforos observados na escama acrômica não passam por quaisquer alterações ultraestruturais (Tabela 3).

Tabela 3. Aspectos ultraestruturais das escamas controles e acrômicas de *Crotalus durissus cascavella*.

	Escama controle Preta	Escama controle marrom	Escama controle branca	Escama acrômica
EPIDERME				
Queratina	Presente	Presente	Presente	Presente
Queratinócitos	Normais e em processo de queratinização	Normais e em processo de queratinização	Normais e em processo de queratinização	Anucleados com partículas intracitoplasmáticas
Melanócitos	Presentes em grande quantidade	Presentes	Raros e desprovidos de melanossomos	Presentes em processo de degeneração
Dentritos melanocíticos	Presentes em grande quantidade	Presentes	Ausentes	Raros
Melanossomos	Presentes em grande quantidade	Presentes	Ausentes	Raros
Cromatóforos mosaicos	Ausentes	Presente	Ausentes	Ausentes
Vacúolos intra e extramelanocíticos	Presente	Presente	Presente	Presentes
Desmosossomos	Presente	Presente	Presente	Presentes
Células basais	Presentes com núcleos volumosos e alongados	Presentes com núcleos volumosos e alongados	Presentes com polimorfismo nuclear	Anucleadas e com núcleos volumosos. Cromatina em processo de degeneração com corpúsculos de inclusão intranucleares e diversas partículas intranucleares e intracitoplasmáticas.
Hemidesmosossomos	Presente	Presente	Presente	Presente
Membrana Basal	Presente	Presente	Presente	Presente
Complexo Amorfo	Ausente	Ausente	Presente	Ausente
DERME				
Melanócitos	Presentes em grande quantidade	Presentes	Raros e desprovidos de melanossomos	Presentes em diferentes estágios de degeneração
Dentritos melanossômicos	Presentes em grande quantidade	Presentes	Ausentes	Presentes em pouca quantidade
Melanossomos	Presentes em grande quantidade	Presentes	Ausentes	Presentes em pouca quantidade
Cromatóforos mosaicos	Ausentes	Presentes	Ausentes	Presentes
Guanóforos	Ausentes	Presentes	Presentes em grande densidade	Presentes
Feixes de colágeno	Presente	Presente	Presente	Presente em grande quantidade
Fibras nervosas mielínicas	Presente	Presente	Presente	Presente

5. DISCUSSÃO

Os resultados das análises macroscópicas tegumentares revelaram um aumento linear tanto no número de serpentes com lesões acrômicas tegumentares quanto no crescimento médio das primeiras lesões observadas nestes animais.

Apesar do aparecimento da acromia cutânea entre as serpentes e o aumento das lesões obedecerem a uma função linear, o aparecimento de novas lesões acrômicas foi exponencial, o que explica a grande diferença no número de lesões entre os grupos A (início da contaminação) e B (fase avançada de contaminação).

Em todas as serpentes *C. d. cascavella* avaliadas, o aumento da área da pele que apresentou lesões cutâneas foi proporcional ao número de lesões acrômicas tegumentares, porém, ambos parâmetros não apresentam relação significativa com o tempo em que as serpentes estão em cativeiro.

Tendo em vista que as serpentes são acondicionadas em caixas individuais e não mantêm contato direto umas com as outras, além de terem a forração e a água trocadas sempre que necessário, foi descartada a possibilidade de que a proliferação desta doença no serpentário tenha sido causada pelo excesso de espécimes na mesma área ou por más condições higiênicas (Horner, 1988; Francisco, 1997; Huchzermeyer, 2002). Contudo, uma via indireta de contaminação poderia estar ocorrendo entre os espécimes através do gancho utilizado durante o manejo.

Após as análises macroscópicas das lesões tegumentares em relação à disposição das caixas de contenção das serpentes nas estantes do serpentário do LAPT_x, foi possível verificar uma íntima relação entre o número de lesões nas serpentes e sua localização nas estantes.

Tendo em vista que a região rostro-cloacal apresentou o maior número de lesões e mostrou ser a primeira área atingida nas serpentes enfermas durante o estudo, e supondo que a via de disseminação da acromia seja aérea, um possível agente poderia estar infectando as serpentes através da inalação, pois é na região rostro-cloacal, no interior dos pulmões, que ocorre a hematopoese. Assim, o agente etiopatológico estaria entrando na corrente sanguínea através dos vasos que irrigam os alvéolos pulmonares e se disseminando mais rapidamente nesta região de maior vascularização em relação à região caudal.

Uma outra hipótese de contágio seria por contato direto do agente com a pele. Uma vez enrodilhada, posição mais comumente adotada pelas serpentes nas caixas, a região rostro-cloacal sobrepõe-se à região caudal, tornando-se a área mais exposta ao agente etiopatológico. Dessa maneira, a região rostro-cloacal seria naturalmente a primeira área a ser infectada.

As lesões acrômicas tegumentares nas cascavéis originaram-se tanto na borda das escamas (onde a queratina é mais espessa e oferece alta resistência a penetração de patógenos externos) quanto na região de dobradiça (local onde a queratina reduz sua espessura no momento da flexão entre as escamas oferecendo menor resistência a ação de agentes externos) (Hildebrand, 1995; Cheatwood, 2000). Isto pode indicar que o agente responsável pela acromia cutânea nas cascavéis atua independente do nível de resistência imposto pela espessura da queratina nas escamas.

Embora os sinais clínicos apresentados pelas cascavéis mantidas no serpentário da UFPE sejam semelhantes àqueles causados por *Treponema carateum*, agente patológico da pinta, doença infecto-contagiosa não-venérea (Fitzpatrick *et al*, 1979); neste estudo, esta possibilidade foi afastada pela negatividade dos testes sorológicos antitreponêmicos.

As cascavéis estudadas, por terem desenvolvido lesões acrômicas cutâneas em diferentes tamanhos que substituem parte da coloração e do padrão natural da pele, poderiam estar desenvolvendo uma doença auto-imune conhecida como pielbaldismo (Cornsnake, 2005), pois quando mantidas em cativeiro, estão susceptíveis a alterações de seu sistema imune (Jacobson, 2004; Ferreira, 1999), contudo as lesões estudadas não estão associadas a bolhas nem a deformidades das escamas.

Em estudo anterior, as análises histológicas das escamas acrômicas revelaram a existência de um distúrbio pigmentar caracterizado por danos na membrana basal, destruição nuclear dos melanócitos epidérmicos com conseqüente diminuição ou ausência da produção de melanina, derrame pigmentar, bem como o desaparecimento da camada de cromatóforos e hipocromia nos escassos cromatóforos existentes (Araújo, 2003). Tendo sido descartada a possibilidade da acromia cutânea nas cascavéis mantidas no serpentário do LAPTx ser causada por fungos e bactérias (Araújo, 2003), tornou-se necessário aprofundar a pesquisa a nível ultraestrutural e investigar a natureza do agente responsável por esta acromia cutânea.

As escamas de diferentes cores dos animais controle apresentavam em comum os seguintes resultados ultraestruturais: presença da camada de queratina, de queratinócitos normais e em processo de queratinização, de vacúolos intra e extramelanocíticos, de desmossomos entre as células do estrato germinativo, de células basais com núcleos volumosos e alongados unidas por hemidesmossomos a uma membrana basal formada por prolongamentos direcionados a derme, bem como de células pigmentares em diferentes densidades, além de diversos feixes de colágeno e fibras nervosas mielínicas a nível dérmico, o que está de acordo com Ranh (1941), Roth *et al.* (1970), Miscalencu e Ionescu (1972), Landmann (1979), Murray e Myerscough (1991), Tu *et al.* (2002) e Alibardi (2002).

A pele de *C. d. cascavella* apresentou diferentes densidades de melanócitos e guanóforos de acordo com a coloração da escama avaliada. A escama controle preta apresentou muitos melanócitos epidérmicos e dérmicos, bem como ausência de guanóforos; a escama controle marrom apresentou alguns melanócitos epidérmicos e dérmicos e a presença de guanóforos; enquanto que a escama controle branca apresentou escassos melanócitos epidérmicos e dérmicos desprovidos de grânulos de melanina e a presença abundante de guanóforos. Estes resultados corroboram as afirmações de Murray e Myerscough (1991) e Kaplan (2002), tendo em vista que a coloração e o padrão da pele das serpentes são determinados pela presença ou ausência, densidade e distribuição dos melanócitos e cromatóforos no interior de cada camada do tegumento.

As lesões das cascavéis analisadas neste estudo estão relacionadas diretamente com a coloração da pele e sua distribuição corpórea, o que poderia indicar a existência de um distúrbio pigmentar com propriedades metastáticas caracterizado pela presença de células pigmentares naturalmente restritas a derme entre as células epidérmicas, organelas com perfis desordenados, bem como a presença de cromatóforos mosaicos em áreas de transição (Jacobson *et al.*, 1989). Porém, a observação de melanóforos e melanossomos na epiderme e derme, bem como a de guanóforos restritos a derme, demonstra características normais da pele de *C. d. cascavella* (Ranh, 1941) e, mesmo tendo sido observado a existência de cromatóforos mosaicos na derme da escama acrômica, isto não indica a existência de um distúrbio pigmentar, pois estes também foram observados na escama marrom controle, o que descarta a possibilidade de um cromatoforoma (Jacobson *et al.*, 1989).

O clareamento tegumentar observado nas serpentes estudadas poderia estar sendo causado por mutações como o albinismo parcial ou o hipomelanismo (Ihle *et al.*,

2000), pela dispersão de melanossomos na derme (Cooper e Greenderg *in* Gans, 1992), bem como pela diminuição na quantidade de melanina depositada na epiderme devido à ausência de incidência solar direta sobre a pele (Orr, 1986; Pough *et al.*, 1999; Reháč, 1987 *apud* Cooper e Greenderg, 1992). Contudo, nossos resultados ultraestruturais revelaram que os melanossomos existentes nos citoplasmas dos melanócitos, os dentritos melanossômicos e os melanossomos já dispersos na epiderme e derme são liberados a cada troca de pele sem que ocorra a reposição dos mesmos, pois os melanócitos epidérmicos e dérmicos estão degenerando-se, tornando-se incapazes de realizar a melanogênese.

As lesões acrômicas tegumentares existentes nas serpentes mantidas no LAPT_x poderiam estar sendo causadas por alterações hormonais na hipófise. Segundo Ranh (1941), algumas cascavéis apresentaram lesões acrômicas causadas pela concentração dos pigmentos no interior dos melanócitos quando submetidas à hipofisectomia. Contudo, os resultados da análise ultraestrutural da escama acrômica revelaram a ausência de qualquer concentração pigmentar.

Especialmente nas células basais das escamas acrômicas, as análises ultraestruturais revelaram a existência de corpúsculos de inclusão intranucleares, os quais apresentaram diferentes localizações, tamanhos e formas. No interior dos corpúsculos notou-se a existência de diversas partículas envolvidas por nítidas membranas que se assemelhavam à capa protéica que encapsulam colônias virais. Estas partículas devem ser dispersas quando o corpúsculo, provavelmente, se desloca do centro nuclear em direção a carioteca, na qual ocorreria um rompimento e pela qual as partículas seriam liberadas. Algumas dessas partículas se tornam intranucleares e, provavelmente, irão degradar o núcleo internamente. Por outro lado, as partículas intracitoplasmáticas, ocupariam toda a área celular degradando o núcleo externamente,

o que explicaria a existência de uma grande quantidade de células basais e queratinócitos anucleados com diversas partículas intracitoplasmáticas limitados apenas por suas membranas plasmáticas.

Conforme os resultados obtidos através das fotomicrografias ultraestruturais, sugere-se que algumas partículas intracitoplasmáticas consigam atravessar a membrana plasmática das células danificadas e alcançar as células adjacentes, espalhando-se pelos seus citoplasmas e, em seguida, atuando em seus nucléolos. Tendo atingido certo grau de maturidade correspondente com a inexistência do nucléolo, é provável que as partículas sejam envolvidas por um novo corpúsculo de inclusão intranuclear.

É interessante destacar que a maioria absoluta das partículas intracitoplasmáticas é restrita a região epidérmica, porém os resultados revelam destruição nuclear nos melanócitos dérmicos, acompanhado de um agressivo rompimento de suas membranas citoplasmáticas e, conseqüentemente, o derrame de suas organelas intracitoplasmáticas. Este fato sugere que as partículas também consigam atravessar a membrana basal e atinjam as células dérmicas. Sendo assim, após atingirem a vascularizada região dérmica (Young *et al.*, in Burkitt, 2001; Araújo, 2003), as partículas poderiam disseminar-se por via sangüínea para todo o corpo da serpente (Kaplan, 2002). Isto explicaria o porquê das lesões acrômicas tegumentares de *C. d. cascavella* apresentarem-se descontinuamente distribuídas por todo o corpo.

Existem algumas doenças que são específicas para determinadas famílias e gêneros de serpentes, especialmente no caso de enfermidades virais (Uplgc, 2005). Com base em observações realizadas no serpentário do LAPTx, constituído de *Crotalus durissus cascavella*, *Bothrops erythromelas*, *Bothrops leucurus* e *Boa constrictor*, é possível sugerir que apenas as cascavéis (*C. d. cascavella*) expressam esta enfermidade através da acromia cutânea, tendo em vista que as 3 jararacas (2 *Bothrops erythromelas*

e uma 1 *Bothrops leucurus*) após contato com um possível agente etiopatológico foram a óbito sem o desenvolvimento das lesões e que a jibóia da espécie *Boa constrictor*, mantida no serpentário há 10 anos não apresentou qualquer sinal cutâneo. É possível que serpentes da espécie *Boa constrictor* apresentem anticorpos naturais contra este possível agente viral como é o caso de serpentes da espécie *Natrix erythrogaster* que apresentam anticorpos naturais contra um vírus causador da estomatite vesicular da família rhabdoviridae (Hoff e Trainer, 1973 in Essbauer e Ahne, 2001).

Alguns grupos virais já foram registrados em serpentes, dentre eles os calicivírus aparentemente não patogênicos e os adeno-, herpes-, paramyxo-, reo-, picorna-, flavo-, retro-, parvo-, e iridovírus responsáveis pelas seguintes sintomatologias: dificuldade respiratória, letargia, pneumonia, hemorragias, necrose pancreática e gastrointestinal, perda de apetite, emagrecimento rápido, redução da temperatura corpórea, ingestão excessiva de líquido, ecdises constantes, convulsões, tumores, distúrbios nervosos como desorientação e regurgitações crônicas (Ackerman, 2003; Essbauer e Ahne, 2001; Hoser, 2003; Kaplan, 2003; Jacobson, 2004; Ulpgc, 2005; James e April, 2005). As cascavéis com lesões acrômicas tegumentares mantidas no serpentário da UFPE não demonstraram nenhuma destas alterações, como também nenhum grau de comprometimento quanto ao aumento de peso e taxa de crescimento.

Até o momento, não existem registros de agentes virais responsáveis pela despigmentação tegumentar em serpentes. Em crocodilos, tartarugas e lagartos foi diagnosticada uma dermatite que, na maioria dos casos, está associada com lesões circulares e esbranquiçadas espalhadas por toda a superfície do corpo, causada por poxvírus (Francisco, 1997; Essbauer e Ahne, 2001; Huchzermeyer, 2002; Sarkis-Gonçalves *et al.*, 2001 in Mattos; James e April, 2005).

Embora as poxviroses estejam associadas a corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos, os quais podem ser encontrados em eritrócitos (James e April, 2005), os resultados ultraestruturais das escamas avaliadas de *C. d. cascavella* revelaram a presença de corpúsculos de inclusão intranucleares.

As lesões acrômicas tegumentares de *C. d. cascavella* até poderiam ser comparadas, macroscopicamente, às manchas brancas observadas na carapaça de várias espécies de camarões do gênero *Penaeus*, provocadas por um baculovírus conhecido como “white spot baculovirus” (WSBV), o qual age na formação de corpúsculos de inclusão intranucleares, porém, estas manchas são conseqüentes a um acúmulo anormal de cálcio na epiderme cuticular e não por destruição de células pigmentares (Lightner, 2003).

Macroscopicamente, as lesões acrômicas tegumentares de *C. d. cascavella* são semelhantes as do vitiligo. Através de avaliação histopatológica constatou-se a existência de danos na membrana basal da epiderme, derrame pigmentar, ausência da camada de cromatóforos distribuída horizontalmente na derme superior e hipocromia nos escassos cromatóforos existentes, sugerindo um processo vitiligóide de despigmentação (Araújo, 2003).

O vitiligo, alteração cutânea caracterizada pela despigmentação da pele e pela formação de máculas acrômicas que tendem a expandir-se aumentando a superfície da área lesionada (Souza Filho, 1991), não é uma patologia restrita aos humanos, já tendo sido registrada em cavalos, porcos, ratos e galinhas (Palkowski *et al*, 1987; Pardue *et al*, 1987). Apesar de sua origem ser desconhecida, vários fatores têm sido propostos como seus agentes desencadeadores, entre eles estão os distúrbios genéticos, os nervosos e os auto-ímmunes, os radicais livres, os hormônios, as enzimas, deficiência nutricional,

autodestruição celular provocada por químicos fenólicos, o estresse e os vírus (Iverson, 2000).

A hipocromia em áreas escuras da pele de *C. d. cascavella* e hiperpigmentação em áreas claras até o aparecimento definido da acromia sugere que, em alguns casos, as células antes de serem degradadas estejam, inicialmente, com alta concentração de melanina. Este fato é um dos suportes da hipótese etiopatogênica autodestrutiva do vitiligo. Esta se caracteriza pelo acúmulo de uma substância tóxica precursora da melanina com ação melanocitolítica, o aumento de oxidação do ácido araquidônico e leucotrienos responsáveis pela exaustão dos melanócitos após proliferação inicial, com conseqüente descontrole do mecanismo natural de eliminação dos melanosomos, levando os melanócitos à disfunção e morte (Nordlund *apud* Thiers, 1986; Mosher *apud* Fitzpatrick, 1987).

Os efeitos provocados por vírus das famílias herpesviridae e retroviridae estão de acordo com os sintomas causados pelo vitiligo, os quais podem ficar em estado de latência por alguns anos antes de atacarem diretamente o DNA dos núcleos melanocíticos em formação ou já formados (Grimes *et al.*, 1996; Iverson, 2000).

Portanto, os resultados ultraestruturais sugerem que a acromia cutânea nas cascavéis mantidas no serpentário do LAPT_x esteja sendo causada por um agente viral que provoca a destruição de todas as células da epiderme e derme, as quais conservavam apenas as membranas plasmáticas, sem qualquer conteúdo citoplasmático, indicando que o prejuízo na pele das cascavéis não está restrito somente a questão da coloração, mas atinge também a produção de todo seu complexo epidérmico. Essa patologia deve, futuramente, comprometer gradualmente a formação das gerações epidérmicas, impossibilitando a realização das ecdises e afetando o crescimento destas serpentes.

6. CONCLUSÕES

Neste estudo concluímos que:

6.1. O número de serpentes enfermas aumentou de forma linear, atingindo 14 espécimes da subespécie *Crotalus durissus cascavella* mantidas em cativeiro na UFPE, enquanto o número de lesões do plantel aumentou exponencialmente (618%).

6.2. Os resultados das análises do soro das serpentes da subespécie *Crotalus durissus cascavella* mantidas em cativeiro na UFPE descartaram a possibilidade de contaminação por bactérias do gênero *Treponema*.

6.3. Os resultados ultraestruturais das escamas controles das serpentes saudáveis da subespécie *Crotalus durissus cascavella* evidenciaram diferenças no perfil epidérmico-dérmico de acordo com a coloração das mesmas, variação na densidade de melanóforos e a presença de guanóforos restritos a derme nas escamas marrom e branca. Nas escamas acrômicas das serpentes enfermas da subespécie *Crotalus durissus cascavella* observou-se desarranjo nas células da epiderme, destruição nuclear progressiva dos melanócitos epidérmicos e dérmicos, a presença de corpúsculos de inclusão intranucleares semelhantes a colônias virais e diversas partículas intranucleares e intracitoplasmáticas em células epidérmicas anucleadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERMAN, L. **The Biology, Husbandry and Health Care of Reptiles**. Neptune City - USA: Editora T.F.H. Publications, Inc. III, 2003.

ALIBARDI, L. Ultrastructure of the Embryonic Snake Skin and Putative Role of Histidine in the Differentiation of the Shedding Complex. **Journal of Morphology**. v. 251, p. 149-168, 2002.

AQUINO, W. K. **Levantamento clínico e epidemiológico dos acidentes ofídicos no estado de Pernambuco**. 1999. Dissertação de Mestrado em Biofísica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

ARAÚJO, L. S. **Estudo Macroscópico, Histológico e Histopatológico de Áreas Cutâneas de *Crotalus durissus cascavella* (Serpentes, Viperidae, Cascavel) Mantidas em Cativeiro**. 2003. Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas, Recife, Pernambuco.

BAGNARA, J. T.; MATSUMOTO, J; FERRIS, W.; FROST, S.K.; TURNER, W.A.; TCHEN, T.T.; TAYLOR, J.D. Common origin of pigment cells. **Science**. v. 203, p. 410-415, 1979.

BALL, H. A. Melanosarcoma and Rhabdomyoma in Two Pine Snakes (*Pituophis melanoleucus*). **Cancer Research**. p. 134-138, 1945.

BARNARD, S. M. **Reptile Keeper's Handbook**. Malabar, FL, Kreiger. 1996.

BAUCHOT, R. **Serpientes**. Matéria Viva 18. Tusquets Editores y Fundació "La Caixa", Barcelona, 1996. In VENENONEMIA. **Disponível < www.venenonemia.org/.../img_anatomia7.jpg> Acesso em: 01 dez. 2005.**

BORGES, R. C. **Serpentes Peçonhentas Brasileiras: Manual de Identificação, Prevenção e Procedimento em caso de Acidentes.** São Paulo: Editora Atheneu, p. 58 - 72, 1999.

CADLE, J. E. Phylogenetic relationships among advanced snakes: a molecular perspective. **Publ. Zool.**, Univ. California, v. 119, p. 1 - 77, 1988.

CALDWELL, M. W. Squamate phylogeny and the relationships of snakes and mosasauroids. **Zool. Journal of the Linnean Society.** v. 125, p. 115 - 147, 1999.

CAMPBELL, J. A.; LAMAR, W. W. **The venomous reptiles of Latin America.** New York: Ed. Comstock Publishing Associates, 1989. 425 p.

CARROL, R. **Vertebrate Paleontology and Evolution,** New York, W. H. Freeman, 1988. 698 p.

CHEATWOOD, J. L. **An outbreak of fungal dermatitis and stomatitis in a wild population of pigmy rattlesnake, *Sistrurus miliarius barbouri* in Florida: description, factors, cyclicity, and prevention.** 2000. A thesis presented to the graduate school of the University of Florida in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science. University of Florida, USA.

COBORN, J. **The Atlas of Snakes of the World.** Neptune City, USA: T.F.H. Publications, Inc, 1991.

COOPER W. E.; GREENBERG, N. Reptilian Coloration and Behavior. In GANS, C.. **Biology of the Reptilia.** Volume 18, Physiology E, Hormones, Brain, and Behavior. The University of Chicago Press Chicago and London, p. 298 - 422, 1992.

CORNSNAKE. Disponível < <http://www.cornsnakes.com/forums/...php?t=5470>> Acesso em 24 nov. 2005.

CUBAS, Z. S. Cuidados veterinários com Répteis em Cativeiro. In FRANCISCO, L. R. **Répteis do Brasil: manutenção em cativeiro**. 1. Ed.: Gráfica e Editora Amaro Ltda, p. 49 - 65, 1997.

DELLMANN, H. D. R.; BROWN, E. M. **Histologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1982.

ESSBAUER, S.; AHNE, W. Viruses of Lower Vertebrates. **J. Vet. Med. B.** v. 48, p. 403 - 475, 2001.

ESTES, R.; BAEZ, A. Herpetofaunas of North America and South America during the late Cretaceous and Cenozoic: evidence for interchange? In: STEHLI, F. G.; WEBB, S. D. **The Great American Biotic Interchange**. 1. Ed. Plenum Press, p. 139 - 181, 1985.

FERREIRA, M. C. Alguns aspectos da patologia dos animais silvestres e exóticos em cativeiro. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v. 94, p. 95 – 105, 1999.

FILHO, G. B.; PITELLA, J. E. H.; PEREIRA, F. E. L.; BAMBIRRA, E. A.; BARBOSA, A. J. A. **Bogliolo Patologia**. 5. Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1994.

FITZPATRICK, T. B.; EISEN; A. Z.; WOLFF, K.; FREEDBERG, I. M.; AUSTEN, K. F. Abnormalities of pigmentation. **Dermatology in General Medicine. Textbook and Atlas**. 2 Ed.: Mcgraw-hill Book Company, 1979.

FRANCISCO, L. R. **Répteis do Brasil: manutenção em cativeiro**. 1.Ed.: Gráfica e Editora Amaro Ltda, 1997.

FRYE, F. L.; CARNEY, J. D.; HARSHBARGER, J. C.; ZEIGEL, R. F.; Malignant Chromatophoroma in a Wester Terrestrial Garter Snake. **Javma**. v. 167, (7), p. 557 – 558, 1975.

GRIMES, P. E.; SEVALL, J. S.; VOJDANI, A. Cytomegalovirus DNA identified in skin biopsy specimens of patients with vitiligo. **Journal of the American Academy of Dermatology**. v. 35 (1), p. 21 – 26, 1996.

HILDEBRAND, M. **Análise da estrutura dos vertebrados**. São Paulo: Atheneu Editora, 1995.

HOFF, G.; TRAINER, D. O. Arboviruses in reptiles: isolation of a Bunyamwera group virus from a naturally infected turtle. *J. Herpetol.* v. 7, p. 55 - 62, 1973. In ESSBAUER, S.; AHNE, W. Viruses of Lower Vertebrates. **J. Vet. Med. B.** v. 48, p. 403 - 475, 2001.

HORNER, R.F. Poxvirus in farmed Nile crocodiles. **The Veterinary Record**. v. 122, p. 459 - 462, 1988.

HOSER, R. Reovirus – successful treatment of small elapids. *Crocodilian*. v. 4 (3), p. 23 – 27, 2003. Disponível <<http://www.smuggled.com/ReoUpd2.htm> > Acesso em 21 fev. 2005.

HUCHZERMEYER, F. W. Disease of farmed crocodiles and ostriches. **Ver.sci.trch.Off.int.Epiz.** v. 21 (2), p. 265 - 276, 2002.

IHLE, R. N.; SCHUETT, G. W.; HUGHES, K. A. Salmon: A New Autosomal Mutation demonstrating Incomplete Dominance in the Boine Snake *Boa constrictor*. Brief Communications. **The Journal of Heredity**. v. 91 (3), p. 254 – 256, 2000. Disponível <http://www.salmonboa.com./pdf/journalheredit_may00.pdf , > Acesso em 09 nov. 2005.

IVERSON, M. V. Hypothesis: Vitiligo Virus. **Pigment Cell Research**. v. 13, p. 281 - 82, 2000.

JACORSON, E. R.; FERRIS, W.; BAGNARA, J. T.; IVERSON W. O.; Chromatophoromas in a Pine Snake. **Pigment Cell Research**. v. 2, p. 26 - 33, 1989.

JACOBSON, E. R. Implications of Infectious Disease for Captive Propagation and Introduction Programs of Threatened/Endangered Reptiles. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v. 24 (4), p. 245 - 255, 1993.

JACOBSON, E. R. **Infectious Diseases of Reptiles**. College of Veterinary. Medicine University of Florida, 2004. Disponível < <http://iacuc.ufl.edu/OLD%20Web%20Site/infectiousdis.htm>> Acesso em 21 fev. 2005.

JAMES, F. X. W.; APRIL, J. J. Reptile virology. **Veterinary Clinics Exotic Animal Practice**. v. 8, p. 27 - 52, 2005.

KAPLAN, M. **Reptile Skin Basis**. Herp Care Collection, 2002. Disponível < <http://www.wingsnake.com/snakegettrs/dermo/vet/links.html-10K> >. Acesso em: 7 ago. 2002.

KAPLAN, M. **Reptile Skin Basis**. Herp Care Collection, 2003. Disponível < <http://www.anapsid.org/lesions.html> > Acesso em 21 fev. 2005.

LANDMANN, L. Keratin Formation and Barrier Mechanisms in the Epidermis of *Natrix natrix* (Reptilia: Serpentes): An Ultrastructural Study. **Journal Morphology**. v. 162, p. 93 - 126, 1979.

LIGHTNER, D. V.; **A Handbook of Pathology and Diagnostic procedure for disease of penaeid shrimp**. University of Arizona, Tucson, Arizona, 2003.

MARQUES, O. A. V.; ETEROVIC, A.; SASIMA, I. **Serpentes da Mata Atlântica. Guia ilustrado para a Serra do Mar**. Ribeirão Preto. Holos Editora LTDA, 2001, 184 p.

MCDOWELL, S. B. Systematics. In: SIEGEL, R. A.; COLLINS, J. T.; NOVAK, S. S. **Snakes: ecology and evolutionary biology**, New York: Macmillan, 1987.

MELGAREJO, A. R.; Serpentes Peçonhentas do Brasil. In CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD, V. **Animais Peçonhentos do Brasil. Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes.** São Paulo, Sarvier. 2003, 468 p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. **Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos.** Brasília, COMED/ASPLAN/FNS, 1998, 131 p.

MISCALENCU, D.; IONESCU, M. D. Fine structure of the basal layer of the *Natrix natrix* (L. epidermis). **Anat. Anz. Bd.** v. 131, p. 97-104, 1972.

MOSHER, D. B.; FITZPATRICK, T. B.; ORTONE, J. P.; HORY, Y. Abnormalities of pigmentation. *Apud* FITZPATRICK, T. B.; EISEN; A. Z; WOLFF, K; FREEDBERG, I. M; AUSTEN, K. F. *Dermatology in General Medicine. Textbook and Atlas.* 3 Ed.: New York, Mcgraw-Hill Book Company, p. 794 - 876, 1987. In FILHO, L. G. C. S. **Vitiligo. Aspectos Imunológicos e Correlações com Alterações Oculares.** 1991. Teses de Doutorado apresentada a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de Doutor. Área de Dermatologia. São Paulo.

MURRAY, J. D.; MYERSCOUGH, M. R. Pigmentation Pattern Formation on Snakes. **J. Theor. Biol.** v.149, p. 339 - 360, 1991.

NORDLUND, J. J. Vitiligo. *Apud* THIERS, B. H; RICHARD, L. D. **Pathogenesis of skin disease.** New York, Churchill Livingstone, p. 99 - 127, 1986. In FILHO, L. G. C. S. **Vitiligo. Aspectos Imunológicos e Correlações com Alterações Oculares.** 1991. Teses de Doutorado apresentada a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de Doutor. Área de Dermatologia. São Paulo.

OPHIDIA. Disponível < [http://: www.ophidia.org.ve/site/links.php](http://www.ophidia.org.ve/site/links.php) > Acesso em 03 dez. 2005.

ORR, T. R. **Biologia dos Vertebrados.** 5.Ed. São Paulo: Editora Roca, 1986, 508 p.

PALKOWSKI, M. R.; NORDLUND, M. L.; RHEINS, L. A.; NORDLUND, J. J. Langerhans' Cell in Hair Follicles of the Depigmenting C57Bl/Ler-vit•vit Mouse. **Arch Dermatol.** v. 123, p. 1022 - 1028, 1987.

PARDUE, S. L.; FITE, K. V.; BENGSTON, L.; LAMONT, S.; BOYLE III. M. L.; SMYTH, J.R. Enhanced integumental and ocular amelanosis following the termination of cyclosporine administration. **J. Invest. Dermatol.** v. 88, p. 758 - 761, 1987.

POUGH, F. H.; HEISER, J. B.; MACFARLAND, W. N. **A Vida dos Vertebrados.** 1.Ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1983.

POUGH, F. H.; HEISER, J. B.; MACFARLAND, W. N. **A Vida dos Vertebrados.** 2.Ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1999, 798 p.

RANH, H. The Pituitary Regulation of Melanophores in the rattlesnake. **Bill Bull.** v. 80, p. 228 - 237, 1941.

REHÁK, I. Color change in the snake *Tropidophis feichi* (Reptilia: Squamata: Tropidophidae). Vestnik Ceskoslovenske Spolecnosti Zoologicke, v. 51, p. 300 - 303, 1987. *Apud* COOPER W. E.; GREENBERG, N. Reptilian Coloration and Behavior. In GANS, C. **Biology of the Reptilia.** Volume 18, Physiology E, Hormones, Brain, and Behavior. The University of Chicago Press Chicago and London, p. 298 - 422, 1992.

ROBERTS, J.B.; LILLYWHITE, H.B. Lipids and the Permeability of Epidermis From Snakes. **The Journal of Experimental Zoology.** v. 228, p. 1 - 9, 1983.

ROTH, S. I.; JONES, W. A. The Ultrastructure of Epidermal Maturation in the Skin of the *Boa constrictor (constrictor constrictor)*. **Journal Ultrastructure Research.** v. 32, p.69 - 93, 1970.

SARKIS-GONÇALVES, F.; MIRANDA-VILELA, M. P.; BASSETI, L. A. B.; VERDADE, L. M. Manejo de Jacarés-de-Papo-Amarelo (*Caiman latirostris*) em Cativeiro. p. 565 - 579, 2001. In: MATTOS, W. R. S. [Ed.]. A Produção Animal na Visão dos Brasileiros. Sociedade Brasileira de Zootecnia, Piracicaba, SP, Brasil. **Disponível** < <http://www.ciagri.usp.br/~lea/publicacoes.htm>> **Acesso em 24 nov. 2005.**

SAZIMA, I. Natural history of the jararaca pitviper, *Bothrops jararaca*, in Southeastern Brazil. In: CAMPBELL, J. A., BRODIE, JR., E. D. **Biology of the pitvipers**. Texas: Selva, p. 199 - 216, 1992.

SHERBROOKE, W. C.; FROST, S. K. Integumental chromatophores of a color-change, thermoregulating lizard, *Phrynosoma modestum* (Iguanidae; Reptilia). **Am. Mus. Novit.** v. 2943, p. 1 - 14, 1989.

SOUZA FILHO, L. G. C. **Vitiligo. Aspectos Imunológicos e Correlações com Alterações Oculares**. 1991. Tese de Doutorado apresentada a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de Doutor. Área de Dermatologia, São Paulo.

STOKER, K. F. Composition of snakes venoms. **In: Medical use of snakes venoms proteins**, Boca Raton: Ed. CRC Press, p. 33 - 57, 1990.

TARTARET. **Disponível em** < www.tartaret.galeon.com/aficiones712214.html> **Acesso em: 03 dez. 2005.**

TU, A. T. **Rattlesnakes Venoms, Their Action and Treatment**. New York: Marcel Dekker, 1982, 393 p.

TU, M. C.; LILLYWHITE, H. B.; MENON, J. G.; MENON, G. K. Postnatal ecdysis establishes the permeability barrier in snake skin: new insights into barrier lipid structures. **The Journal of Experimental Biology**. v.205, p. 3019 - 3030, 2002.

ULPGC. Disponível <<http://www.ulpgc.es/paginas/webs/apreptil/serpi.htm>> Acesso em: 21 fev. 2005.

VANZOLINE, P. E.; COSTA, A. M. M. R.; VITT, L. J. **Répteis da Caatinga**. Rio de Janeiro. Fundo Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FNDCT), 1980.

VANZOLINI, P. E.; HEYER, W. R. The American herpetofauna and the interchange. In: STEHLI, F. G.; WEBB, S. D. **The Great American Biotic Interchange**. 1 Ed., Plenum Press., p. 475 - 487, 1985.

VENENONEMIA. Disponível < www.venenonemia.org/.../img_anatomia7.jpg> Acesso em: 01 dez. 2005.

YOUNG, B.; HEATH, J. W. Pele. In: BURKITT, H. G.; YOUNG, B.; HEATH, J. W. (eds.). **Histologia Funcional texto e atlas em cores**. 4. Ed. RJ: Guanabara Koogan, p. 157 - 171, 2001.

ZUG G. R.; VITT L. J.; CALDWELL J. P. Herpetology. An introductory biology of Amphibians and Reptiles. 2ª Edição. San Diego: Academic Press, 2001, 630 p. Apud MELGAREJO, A. R.; Serpentes Peçonhentas do Brasil. In CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD, V. **Animais Peçonhentos do Brasil. Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes**. São Paulo, Sarvier. 2003.

ANEXO 1

**Registro da área corpórea total de 15 serpentes da subespécie
Crotalus durissus cascavella no período de julho de 2003 a agosto de 2005.**

Área Corpórea Total (cm²)					
Grupo	Registro	Julho/2003	Abril/2004	Novembro/2004	Agosto/2005
A	170	889,70	1105,21	1105,21	1429,26
	173	1019,45	1271,20	1318,21	1489,60
	175	997,26	1145,87	1170,34	1261,34
	185	1941,00	1948,85	1948,85	2174,85
	221	1818,09	1933,64	1933,64	1981,00
	244	Nd	Nd	Nd	0960,38
	249	Nd	Nd	Nd	1071,26
	354	Nd	Nd	Nd	1718,00
B	050	1255,28	1835,00	2010,35	2004,85
	137	2174,88	2529,85	2654,88	2851,38
	138	2361,70	2414,38	2548,84	2677,88
	148	1999,00	2229,75	2345,73	2429,85
	153	873,23	1317,28	1317,26	1488,60
	157	1941,00	2582,85	2582,85	2544,85
	179	1121,28	1525,88	1615,26	1612,00

Nd: não determinado

ANEXO 2

Registro do número de lesões acrômicas tegumentares rostro-cloacais e caudais em 15 serpentes da subespécie *Crotalus durissus cascavella* no período de julho de 2003 a agosto de 2005.

Número de Lesões nas Regiões Rostro-Cloacal/Caudal					
Grupo	Registro	Julho/2003	Abril/2004	Novembro/2004	Agosto/2005
A	170	0/0	6/0	10/0	12/0
	173	0/0	0/0	5/0	5/0
	175	0/0	2/0	5/0	11/0
	185	0/0	0/0	3/0	2/0
	221	0/0	0/0	1/0	6/0
	244	0/0	0/0	0/0	2/0
	249	0/0	0/0	0/0	0/0
	354	0/0	0/0	0/0	1/0
B	050	9/2	19/2	51/4	62/4
	137	6/1	23/1	40/1	63/3
	138	8/2	16/5	34/3	39/3
	148	8/3	15/1	35/4	73/5
	153	9/1	2/1	32/2	41/4
	157	18/6	39/4	59/3	94/8
	179	2/2	13/4	19/5	35/3
	Total		77	153	316

ANEXO 3

Registro do percentual da área lesionada rostro-cloacal em relação à área rostro-cloacal de 15 serpentes da subespécie *Crotalus durissus cascavella* no período de julho de 2003 a agosto de 2005.

Percentual da Área Lesionada Rostro-Cloacal em Relação à Área Rostro-Cloacal					
Grupo	Registro	Julho/2003	Abril/2004	Novembro/2004	Agosto/2005
A	170	0	0,2	0,8	1,4
	173	0	0	0,2	0,4
	175	0	0,1	0,2	0,4
	185	0	0	0,7	0,4
	221	0	0	0,008	0,4
	244	Nd	Nd	Nd	0,1
	249	Nd	Nd	Nd	0
	354	Nd	Nd	Nd	0,007
B	050	1,2	4,9	8,1	10,4
	137	0,3	1,7	3,9	5,7
	138	0,5	1,2	2,5	3,1
	148	0,6	1,6	3,1	4,5
	153	0,9	2,6	3,0	4,6
	157	1,8	3	3,9	9,3
	179	0,1	1	1,5	3,8

Nd: não determinado

ANEXO 4

**Registro da área lesionada total de 15 serpentes da subespécie
Crotalus durissus cascavella no período de julho de 2003 a agosto de 2005.**

Área Lesionada Total (cm²)					
Grupo	Registro	Julho/2003	Abril/2004	Novembro/2004	Agosto/2005
A	170	0	2,24	8,50	20,04
	173	0	0	3,30	5,50
	175	0	1,12	2,27	4,52
	185	0	0	12,90	9,66
	221	0	0	0,15	7,40
	244	Nd	Nd	Nd	1,06
	249	Nd	Nd	Nd	0
	354	Nd	Nd	Nd	0,12
B	050	16,00	90,72	161,99	207,76
	137	8,22	47,61	160,92	169,43
	138	12,50	34,95	65,45	082,72
	148	20,05	40,20	77,03	118,80
	153	7,95	34,85	40,83	71,89
	157	44,00	79,03	102,42	239,39
	179	1,85	16,64	24,92	60,60

Nd: não determinado

ANEXO 5

Registro do percentual da área lesionada caudal em relação à área caudal de 15 serpentes da subespécie *Crotalus durissus cascavella* no período de julho de 2003 a agosto de 2005.

Percentual da Área Lesionada Caudal em Relação à Área Caudal					
Grupo	Registro	Julho/2003	Abril/2004	Novembro/2004	Agosto/2005
A	170	0	0	0	0
	173	0	0	0	0
	175	0	0	0	0
	185	0	0	0	0
	221	0	0	0	0
	244	Nd	Nd	Nd	0
	249	Nd	Nd	Nd	0
	354	Nd	Nd	Nd	0
B	050	4,9	4,3	6,4	6,1
	137	6,1	15,5	12,7	21,4
	138	0,5	15,4	7,8	4,3
	148	31,5	20,5	19,2	33,3
	153	3,8	4,6	8,2	19,9
	157	23,9	6,9	7,6	17,1
	179	3,9	6,3	6,3	3,8

Nd: não determinado

ANEXO 6

Registro do percentual da área lesionada total em relação à área corpórea total de 15 serpentes da subespécie *Crotalus durissus cascavella* no período de julho de 2003 a agosto de 2005.

Percentual da área lesionada total em relação à área corpórea total					
Grupo	Registro	Julho/2003	Abril/2004	Novembro/2004	Agosto/2005
A	170	0	0,2	0,8	1,4
	173	0	0	0,2	0,4
	175	0	0,1	0,2	0,4
	185	0	0	0,7	0,4
	221	0	0	0,008	0,4
	244	Nd	Nd	Nd	0,1
	249	Nd	Nd	Nd	0
	354	Nd	Nd	Nd	0,007
B	050	1,3	4,9	8,1	10,4
	137	0,4	1,9	6,1	5,9
	138	0,5	1,4	2,6	3,1
	148	1	1,8	3,3	4,9
	153	0,9	2,6	3,1	4,8
	157	2,3	3,1	4	9,4
	179	0,2	1,1	1,5	3,8

Nd: não determinado

ANEXO 7

Acompanhamento do crescimento médio das primeiras áreas lesionadas rostro-cloacais de 15 serpentes da subespécie *Crotalus durissus cascavella* no período de julho de 2003 a agosto de 2005.

Média das primeiras áreas lesionadas rostro-cloacais					
Grupo	Registro	Julho/2003	Abril/2004	Novembro/2004	Agosto/2005
A	170	0	0,37	1,11	2,62
	173	0	0	0,66	1,10
	175	0	0,56	0,84	0,93
	185	Nd	Nd	Nd	Nd
	221	0	0	0,15	4,20
	244	Nd	Nd	Nd	0,53
	249	Nd	Nd	Nd	Nd
	354	Nd	Nd	Nd	0,12
B	050	1,67	7,58	10,24	13,71
	137	1,04	4,75	7,95	8,55
	138	1,36	2,50	4,94	6,11
	148	1,44	3,60	5,32	4,79
	153	0,83	2,31	2,93	4,57
	157	1,50	3,35	3,48	4,30
	179	0,67	2,88	3,83	11,90
Média		1,21	3,85	5,53	7,70

Nd: não determinado

ANEXO 8

**Registro do peso (kg) de 15 serpentes da subespécie
Crotalus durissus cascavella no período de julho de 2003 a agosto de 2005.**

Peso (kg)						
Grupo	Registro	Julho/2003	Abril/2004	Novembro/2004	Agosto/2005	Ganho de peso (%)
A	170	0,210	0,340	0,550	0,645	207,1
	173	0,335	0,455	0,640	0,875	161,2
	175	0,268	0,420	0,560	0,600	120,1
	185	0,845	1,130	1,250	1,520	79,9
	221	0,770	0,750	0,860	0,935	21,4
	244	Nd	Nd	Nd	0,440	Nd
	249	Nd	Nd	Nd	0,545	Nd
	354	Nd	Nd	Nd	0,965	Nd
B	050	0,555	1,040	1,260	1,465	164,0
	137	1,395	2,080	2,250	2,515	80,3
	138	1,305	1,755	1,950	2,095	60,5
	148	1,230	1,485	1,685	1,885	53,2
	153	0,333	0,565	0,730	0,840	152,2
	157	1,095	1,585	1,600	1,735	58,4
	179	0,435	0,715	0,775	0,820	88,5

Nd: não determinado

ANEXO 9

**Registro do comprimento total de 15 serpentes da subespécie
Crotalus durissus cascavella no período de julho de 2003 a agosto de 2005.**

Comprimento Total (cm)						
Grupo	Registro	Julho/2003	Abril/2004	Novembro/2004	Agosto/2005	Crescimento (%)
A	170	94	98	98	108	14,9
	173	90	97	97	113	25,5
	175	90,5	99	99	106	17,1
	185	126	126	126	134	6,3
	221	119	120	120	122	2,5
	244	Nd	Nd	Nd	93	Nd
	249	Nd	Nd	Nd	98	Nd
	354	Nd	Nd	Nd	114	Nd
B	050	112	123	123	126	12,5
	137	129	135	135	137	6,2
	138	134,5	138,5	139	139	3,3
	148	126	126	126	129	2,4
	153	93	112	112	121	30,1
	157	126	135	135	139	10,3
	179	99	107	107	114	15,1

Nd: não determinado