



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária
Estudo Retrospectivo

*Estudo preliminar sobre a utilização da eletroforese das proteínas
plasmáticas como instrumento de diagnóstico para a libertação
das tartarugas marinhas - exemplo da tartaruga comum*

Marine Sonia Michèle Hauchard

Coimbra, julho 2024



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária
Estudo retrospectivo

***Estudo preliminar sobre a utilização da eletroforese das proteínas
plasmáticas como instrumento de diagnóstico para a libertação
das tartarugas marinhas - exemplo da tartaruga comum***

Coimbra, julho 2024

Marine Sonia Michèle Hauchard

Constituição do Júri

*Doutora Anabela Maduro
de Almeida Francisco*

*Doutora Maria Carolina
Rocha de Medeiros Bento*

Trabalho realizado sob a orientação do/a(s)

Doutora Myriam Kanoun-Boulé

Mestre Teresa Teigão Martins



Dissertação de Estágio Curricular do Ciclo de Estudos Conducente ao Grau de Mestre em Medicina Veterinária da EUVG



Agradecimentos:

À minha tutora interna, Myriam Kanoun-Boulé, pelo seu apoio tão reconfortante, e à minha co-tutora interna, Teresa Teigão, pela sua ajuda.

À Florence Dell’Amico, por me ensinar tanto sobre nossas amigas tartarugas, graças à sua dedicação incansável e por confiar em mim. Sou grata por fazer parte das pessoas em quem o CESTM pode confiar.

À doutora Laureline Belluau, por me permitir embarcar nesta aventura e pelos seus preciosos conselhos quando eu era seu «peixe-piloto».

À Benoit Simon-Bouhet, por sua ajuda tão valiosa, sem a qual eu ainda estaria presa no meio do meu estudo.

À Moussete e todos os meus amigos em Coimbra.

À minha família, pelo seu apoio.

À minha ilha, a koz cé grâce à bana a Kelonia ke mon l’envi okipe a mwin des tortues marines la ni.

Índice geral:

1	INTRODUÇÃO:	4
1.1	ECOLOGIA DA TARTARUGA MARINHA	4
1.2	CAUSAS DE ADMISSÃO DAS TARTARUGAS AO CENTRO DE RECUPERAÇÃO	4
1.3	A ELECTROFORESE DAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS	5
2	MATERIAL E MÉTODOS	6
2.1	OBJETO DO ESTUDO	6
2.1.1	Exames clínicos	7
2.2	RECOLHA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS	7
2.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	8
2.3.1	Análise em Componentes Principais	8
3	RESULTADOS	9
3.1	MATRIZ DE CORRELAÇÃO	9
3.2	IDENTIFICAÇÃO DOS PERFIS ESPECÍFICOS	10
3.2.1	Traumas	10
3.2.2	Afeções pulmonares	11
3.2.3	Debilidade física inespecífica	11
4	DISCUSSÃO	14
5	REFERÊNCIAS	18
6	ANEXOS	20

Índice de figuras:

Figura 1: Matriz de correlação	10
Figura 2: ACP das EP, bioquímicas e ionogramas - Gráficos dos indivíduos e os círculos das correlações correspondentes	13
Figura 3: Gráficos dos indivíduos e os círculos das correlações correspondentes	13
Figura 4: Peso corporal em correlação com SCL em cinco grupos de idade em tartaruga comum	20
Figura 5: Exemplos de exames tomo-densitométricos, vista dorsoventral e caudo-craneal.....	20
Figura 6: Representação do perfil eletroforetico para uma tartaruga comum (Caretta caretta)	22

Índice de tabelas:

Tabela 1: dados sanguíneos e biométricos dos indivíduos.....	21
Tabela 2: Resumo das medidas estatísticas e intervalos de referências	22

Lista de siglas, símbolos e abreviaturas

- CESTM = Centro de estudo e de saúde para Tartarugas Marinhas
- CITES = Comércio Internacional das Espécies da Fauna Selvagem
- UICN = União Internacional para a Conservação da Natureza
- EP = Electroforese das proteínas
- PIF = Peritonite Infeciosa Felina
- SCL = *Straight Carapace Lenght*
- ACP = Análise em Componentes Principais

Estudo preliminar sobre a utilização da eletroforese das proteínas plasmáticas como instrumento de diagnóstico para a libertação das tartarugas marinhas - exemplo da tartaruga comum

Marine Hauchard ^a, Florence Dell'Amico^b, Teresa Teigão^a, Myriam Kanoun-Boulé^a

^a Departamento de Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário – Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal

CIVG – Vasco da Gama Research Center / EUVG – Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário, Lordemão, 3020- 210, Coimbra, Portugal (teteigao@euvvg.pt, myriam.boule@euvvg.pt)

^b Aquarium La Rochelle – Centre d'Études et de soins pour les Tortues Marines (CESTM), Quai Louis Prunier – BP 4 – 17002, La Rochelle Cedex 1, France (tortues@aquarium-larochelle.com)

Resumo:

A electroforese das proteínas sanguíneas (EP) tem sido demonstrada como uma ferramenta útil em animais de companhia uma vez que representa uma maneira prática de obter diagnósticos diferenciais. Em espécies exóticas ou selvagens, tais como as tartarugas comuns (*Caretta caretta*), a EP pode ser uma ferramenta para caracterizar a proteinémia a fim de avaliar as respostas imunológicas humorais. Isso inclui a quantificação de albumina, bem como o exame das diferentes frações de globulinas incluindo aquelas representativas da fase aguda; alfa e beta-globulinas e aquelas representativas das imunoglobulinas; as gama-globulinas. Durante este estudo, todas as tartarugas recuperadas pelo Centro de Estudo e de Saúde para Tartarugas Marinhas (Centre d'Études et de Soins pour les Tortues Marines - CESTM) do aquário La Rochelle e integradas neste estudo, são indivíduos juvenis. Este tipo de análise apresenta desafios especiais relacionados com o tipo de animais, nomeadamente na definição de valores de referência específicos para esta espécie neste estado de vida, e na interpretação dos resultados. Contudo, a EP poderá revelar-se indispensável para obter prognósticos de sobrevivência e avaliar a saúde global dos animais em reabilitação, desta maneira o seu potencial deve ser explorado e potencialmente tornado numa ferramenta de rotina na medicina destes animais.

Palavras-chaves: *Caretta caretta*, eletroforese, juvenis, proteínas plasmáticas

Abstract:

*The electrophoresis of blood protein (EP) has been demonstrated as a useful tool in companion animals as it represents a practical way to obtain differential diagnoses. In exotic or wild species, such as loggerhead turtles (*Caretta caretta*), EP can be a tool to characterize proteinemia in order to assess humoral immune responses. This includes quantification of albumin, as well as examination of different globulin fractions including those representatives of acute phase; alpha and beta-globulins, and those representatives of immunoglobulins; gamma-globulins. During this study, all turtles recovered by the Center for Study and Health for Marine Turtles (Centre d'Études et de Soins pour les Tortues Marines - CESTM) of the aquarium La Rochelle and integrated to this study, are juveniles. This type of analysis presents special challenges related to these animals, particularly in defining specific reference values for this specie at this life stage, and in interpreting the results. However, EP may prove indispensable for obtaining survival prognoses and assessing the overall health of animals in rehabilitation, so its potential should be explored and potentially made into a routine tool in the medicine of these animals.*

Key words: *Caretta caretta, electrophoresis, juveniles, plasma proteins*

1 INTRODUÇÃO:

1.1 ECOLOGIA DA TARTARUGA MARINHA

As tartarugas marinhas pertencem à classe dos répteis, e à super família dos *Chelonioidea*. São animais ectotérmicos, o que significa que a sua temperatura interna varia com a do meio ambiente. Existem sete espécies de tartarugas marinhas distribuídas ao longo das costas e dos oceanos; as tartarugas comuns (*Caretta caretta*), as tartarugas-de-kemp (*Lepidochelys kempii*), as tartarugas verdes (*Chelonia mydas*), as tartarugas oliváceas (*Lepidochelys olivacea*), as tartarugas-de-pente (*Eretmochelys imbricata*), as tartarugas flatback (*Natator depressus*) e as tartarugas de-couro (*Dermochelys coriacea*). As tartarugas comuns, sendo a espécie mais comumente encontrada, podem viver nas águas tropicais do oceano Índico ou Pacífico, bem como nas águas temperadas do Mar Mediterrâneo e do oceano Atlântico. Apesar de ter uma distribuição geográfica variada, a tartaruga comum consta da lista das espécies ameaçadas e protegidas pela Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Fauna Selvagem (CITES) e é na lista vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) com o critério “em perigo” (Lutz Peter et al, 2002; Manire Charles et al, 2017).

As tartarugas comuns encontradas ao longo da costa atlântica francesa são juvenis provenientes da Flórida, nos Estados Unidos, ou de Cabo Verde, em África. Após eclosão dos ovos na praia, as tartarugas comuns vão iniciar uma migração para o largo, onde se alimentam de zooplâncton pelágico como copépodes ou pequenos artrópodes. Os juvenis podem pesar até cerca de 25kg. A partir deste ponto, eles tornam-se sub-adultos e são capazes de se alimentar de presas maiores que povoam a área bentónica, como caranguejos ou moluscos. Os adultos podem chegar a cerca de 120-150 kg (Lutz Peter et al, 2002; Manire Charles et al, 2017).

1.2 CAUSAS DE ADMISSÃO DAS TARTARUGAS AO CENTRO DE RECUPERAÇÃO

Quando enfraquecidas, as tartarugas comuns aproximam-se da costa, ficam à deriva passivamente, podendo ficar presas nas correntes, encontradas arrojadas nas praias ou como capturas acidentais em barcos de pesca. Elas são então recolhidas e tratadas pelo Centro de Estudos e Cuidados para as Tartarugas Marinhas do Aquário de La Rochelle (CESTM) até que seja possível libertá-las no seu habitat natural. É no fim do outono e início do inverno que a quantidade e a frequência das admissões de tartarugas no centro de recuperação são mais importantes. Isso tem a ver com as condições meteorológicas que dão origem a tempestades e alterações da temperatura e do pH da água que têm

grande influência sobre as células efectoras do sistema imunitário inato dos indivíduos juvenis em particular. Para além disso, existe uma involução sazonal fisiológica do timo e do baço, órgãos responsáveis pela imunidade adaptativa, nos vertebrados ectotérmicos. Assim perto da época fria, as tartarugas comuns são mais sensíveis a infeções e feridas, sobretudo os indivíduos juvenis (Nash & Ryan, 2023).

Durante este período, o stress térmico conhecido como «*cold-stunning*», torna as tartarugas vulneráveis e debilitadas. Trata-se de uma hipotermia que ocorre quando estes animais são expostos a uma diminuição forte da temperatura da água até valores inferiores a 10°C por um período prolongado. Em resposta às condições sazonais, as tartarugas vão para águas mais profundas ou migram para o sul. Contudo, caso não consigam deslocar-se para águas mais quentes, por causa de correntes demasiado fortes ou um desenvolvimento muscular insuficiente, podem apresentar esta hipotermia caracterizada pela redução na taxa metabólica, bradicardia, letargia e alterações nos processos fisiológicos (Anderson, Eric T. et al., 2011).

Os juvenis que são atingidos por *cold-stunning* tendem a desenvolver um quadro crónico que leva a outras perturbações do organismo como alterações bioquímicas, afeções respiratórias, e infeção de feridas, que podem dar origem a lesões com repercussão sistémica como a artrite séptica. Esses indivíduos apresentam-se geralmente muito debilitados, letárgicos e flutuantes e precisam de ser hospitalizados durante várias semanas até meses (Manire Charles et al, 2017).

1.3 A ELECTROFORESE DAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS

Na medicina dos animais de estimação, a electroforese das proteínas (EP) já é amplamente usada; para diagnosticar hepatopatias ou ainda para compreender a evolução de um processo inflamatório. Embora por si só, esta análise não permita detetar uma doença em particular, é uma ferramenta muito útil no diagnóstico de algumas patologias como a erliquiose, a peritonite infecciosa felina (PIF) ou no diagnóstico diferencial de mielomas (Jania & Andraszsek, 2016).

Na medicina dos animais selvagens, ou nas espécies não convencionais, muitas vezes os primeiros achados no exame clínico são animais debilitados ou anoréxicos. Este tipo de sintomas não específicos é frequentemente acompanhado por uma elevação das proteínas totais. A EP pode ser particularmente útil nestas situações, pois permite quantificar as diferentes frações dessas proteínas. Por exemplo, a EP permite distinguir doenças infecciosas de tumores malignos, fornecendo assim um critério prognóstico (Jania & Andraszsek, 2016).

As proteínas da fase aguda refletem a atividade do sistema imunitário. O aumento na concentração destas proteínas indica a presença de uma resposta sistémica por parte do animal a uma agressão local ou sistémica. Assim este tipo de análise pode revelar-se útil num contexto de conservação de espécies, por detetar distúrbios patológicos em animais cujo estado de saúde geral se encontra alterado sem que seja conhecida a etiologia (Nash & Ryan, 2023).

Nas aves e nos répteis, a eletroforese das proteínas plasmáticas é a técnica a mais precisa para a quantificação das diferentes frações proteicas. Outras técnicas como a ligação ao corante verde de bromocresol fornecem valores sobrestimados, sobretudo nos animais doentes, o que altera a decisão clínica. A técnica de eletroforese consiste na migração das moléculas com base nas suas cargas e tamanhos através de um gel, geralmente de agarose, após aplicação de uma corrente elétrica. A albumina e as globulinas, nomeadamente alfa (α), beta (β) e gama (γ), migram e separam-se no gel. Depois, uma coloração com azul de Coomassie permite a quantificação em percentagem destas diferentes frações por densitometria (Müller & Brunnberg, 2010; Cray, 2021).

Em medicina veterinária, a realização deste tipo de análise permite obter informações cruciais para auxiliar os diagnósticos e monitorizar os tratamentos, ajudando assim nas decisões clínicas. Dessa maneira, a aplicação da EP plasmáticas destaca-se como uma abordagem promissora no entendimento da saúde global das tartarugas marinhas e pode contribuir para orientar as decisões dos veterinários. O presente estudo tinha como objetivo determinar se as informações obtidas através da EP plasmáticas das tartarugas comuns são coerentes com os resultados das análises bioquímicas e iónicas. Além disso, procuravam-se identificar eventuais grupos de indivíduos a fim de comparar os seus parâmetros sanguíneos com os achados clínicos e verificar a existência de perfis patológicos que podem ser detetados pela análise electroforética.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBJETO DO ESTUDO

O presente trabalho final de curso obteve parecer favorável da Comissão de Ética da EUVG (Parecer nº18/2024). Os vinte e oito indivíduos integrados neste estudo foram encontrados na costa Atlântica, na frente Mancha-Atlântica e no golfo da Gasconha, durante o outono e o inverno, ou seja, entre os meses de setembro e fevereiro. Todos se tratavam de juvenis da espécie *Caretta caretta*, de sexo indeterminado, com peso entre 0,162 e 3,256 kg e com 10,8 a 26,8 cm de comprimento reto da carapaça, ou SCL (*Straight Carapace Length*). Através do estudo de Rousselet et al. (2013), é possível estimar a idade das tartarugas com base nestes dados biométricos. Esta informação constitui um

indicador útil para a seleção dos intervalos de referências para os diversos parâmetros sanguíneos. Assim, as tartarugas que participaram neste estudo teriam até 20 meses de idade no máximo (Figura 4, em anexo).

2.1.1 Exames clínicos

Estas tartarugas apresentavam sintomas diversos e foram selecionadas para integrar o presente estudo com o intuito de representar, da melhor forma, os diferentes perfis patológicos encontrados nas populações de tartarugas marinhas desta zona e neste período do ano.

Para isso, foram realizados exames complementares tais como radiografias e exames tomográficos. Estes exames clínicos permitiram detetar, na maioria dos casos, lesões pulmonares, incluindo presenças de nódulos pulmonares, pneumonias de origem infecciosa ou inflamatória, alterações do volume pulmonar, bem como pneumatocelos (Figura 5, em anexo).

De acordo com o estudo de Gicking et al. (2004), o uso de plasma sanguíneo é preferível ao soro em animais não mamíferos devido à presença de um importante indicador da inflamação, que é o fibrinogénio, por isso apenas as análises realizadas em amostras de plasma sanguíneo foram consideradas. Esta metodologia permite assim evitar qualquer viés relacionado com a natureza da amostra, ou seja, à presença ou não do fibrinogénio.

Por fim, como último critério de seleção, apenas as tartarugas nas quais foi possível realizar uma colheita de sangue até uma semana após a sua admissão no centro de reabilitação foram selecionadas para integrar o estudo. De facto, alguns indivíduos que apresentavam hipovolémia, desidratação marcada ou debilidade intensa necessitaram de cuidados antes de qualquer análise sanguínea.

2.2 RECOLHA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

A colheita de sangue é realizada na veia jugular externa em tubos com heparina logo após a admissão do animal no centro de recuperação. Para os indivíduos muito desidratados, a colheita de sangue pode tornar-se um processo delicado e prejudicial para a sobrevivência da tartaruga. Neste caso, alguns dias adicionais são dedicados à reidratação do animal antes das análises sanguíneas.

As concentrações de sódio, potássio, e cloro são obtidas diretamente após a colheita de sangue, em tubos com heparina, utilizando o equipamento analítico do tipo Stat Profile Prime Plus VET. As concentrações de ácido úrico, cálcio, fósforo, e as proteínas totais são obtidas a partir do plasma, após centrifugação do sangue, utilizando o equipamento do tipo IDEXX Catalyst Dx. Em seguida, o plasma é armazenado na arca frigorífica até ao envio para o laboratório, onde é realizada a eletroforese das



proteínas, que fornece os dados sobre a concentração de proteínas totais, de albumina, de α globulinas 1 e 2, de β globulinas 1 e 2, de γ globulinas 1 e 2, bem como o rácio albumina:globulinas.

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises sanguíneas fornecem dados sobre as concentrações de sódio, potássio, cloro, ácido úrico, cálcio, fósforo, e proteínas totais, e a EP fornece as concentrações das diferentes frações protéicas. Mais, as medidas das SCL fornecem dados sobre o tamanho dos animais. Estes dados foram analisados no software R-Studio por meio de uma Análise de Componentes Principais (ACP).

Numa primeira etapa, foi realizado o levantamento dos graus de correlação entre os parâmetros sanguíneos, com objetivo de identificar as informações que a eletroforese das proteínas pode fornecer sobre os resultados da bioquímica e do ionograma (Figura 1). Depois, um círculo de correlação foi concebido para cada dimensão selecionada da análise para evidenciar os parâmetros mais relevantes da variabilidade e identificar assim os indivíduos que apresentam perfis específicos (Figura 2). Como base para a realização da ACP, os diversos parâmetros visando a caracterizar os indivíduos, ou seja, os resultados das análises sanguíneas e as medidas biométricas, foram compilados numa tabela de dados (Tabela 1, em anexo).

2.3.1 Análise em Componentes Principais

Esta análise fornece informações sobre o grau de correlação entre os diferentes parâmetros sanguíneos que constituem as variáveis e permite destacar aqueles que são mais pertinentes. Além disso, indivíduos com características semelhantes são destacados e agrupados para definir possíveis perfis específicos.

Uma primeira ACP foi realizada com os dados das EP, bioquímica e ionograma. De acordo com o critério de Kaiser, o qual estabelece que os eixos com autovalores superiores a um são mantidos, quatro dimensões desta análise foram selecionadas: proteínas totais, albumina, alfa e beta-globulinas e SCL no eixo um; gama-globulinas, rácio albumina:globulina, ácido úrico, potássio e cloro no eixo dois; beta e gama-globulinas, cálcio, fósforo, sódio e SCL no eixo três; albumina, rácio albumina:globulina e potássio no eixo quatro. Consequentemente, foram realizados três círculos de correlação para identificar se existem indivíduos com perfis distintos em relação aos vetores fornecidos. Os círculos de correlação e os gráficos que mostram a posição dos indivíduos encontram-se apresentados na Figura 2.



Posteriormente, uma segunda ACP foi realizada apenas com base nos dados das EP com o objetivo de realçar semelhanças que podem existir exclusivamente na base das proteínas sanguíneas, e desta vez, três dimensões foram selecionadas: proteínas totais, albumina, alfa e beta-globulinas no eixo um; albumina e rácio albumina:globulina no eixo dois; e beta e gama-globulinas e SCL no eixo três. Os círculos destas correlações encontram-se apresentados na Figura 3. Para avaliar os valores dos parâmetros sanguíneos, recorreremos aos intervalos de referência estabelecidos para tartarugas de 20 meses, conforme descritos por Rousselet et al (2013), bem como os valores médios, medianos, e os primeiros e terceiros quartis dos dados (Tabela 2, em anexo).

3 RESULTADOS

3.1 MATRIZ DE CORRELAÇÃO

A matriz de correlação entre as diferentes variáveis da análise encontra-se representada na Figura 1. A concentração de proteínas totais detetada pela EP coincide em 98% com a detetada pela análise bioquímica. Algumas frações proteicas da EP parecem estar ligadas entre si; com 67% de correlação entre as alfa-globulinas e as beta-globulinas, e 51% entre as alfa e as gama-globulinas. No entanto, as gama-globulinas aparecem totalmente independentes das beta-globulinas, com uma correlação de 0%. Nos resultados da EP em relação com os da bioquímica; a albumina, as alfa-globulinas e as beta-globulinas não apresentam correlações significativas com os parâmetros bioquímicos. A albumina é totalmente independente do fósforo e do potássio, da mesma forma que das alfa-globulinas. As alfa-globulinas apresentam 47% de correlação com o ácido úrico enquanto as gama-globulinas têm uma correlação de 52% com este mesmo parâmetro.

Os resultados da bioquímica não apresentam correlações importantes entre si, tendo sido identificadas apenas uma correlação de 65% entre o potássio e o cloro, e uma correlação negativa de 42% entre o cálcio e o fósforo.

Os dados morfométricos, ou seja, o comprimento reto da carapaça, apresentam correlações relevantes com alguns parâmetros da EP: 61% com as proteínas totais e a concentração de albumina, 40% com as alfa-globulinas, 34% com as beta-globulinas e 54% com as gama-globulinas.

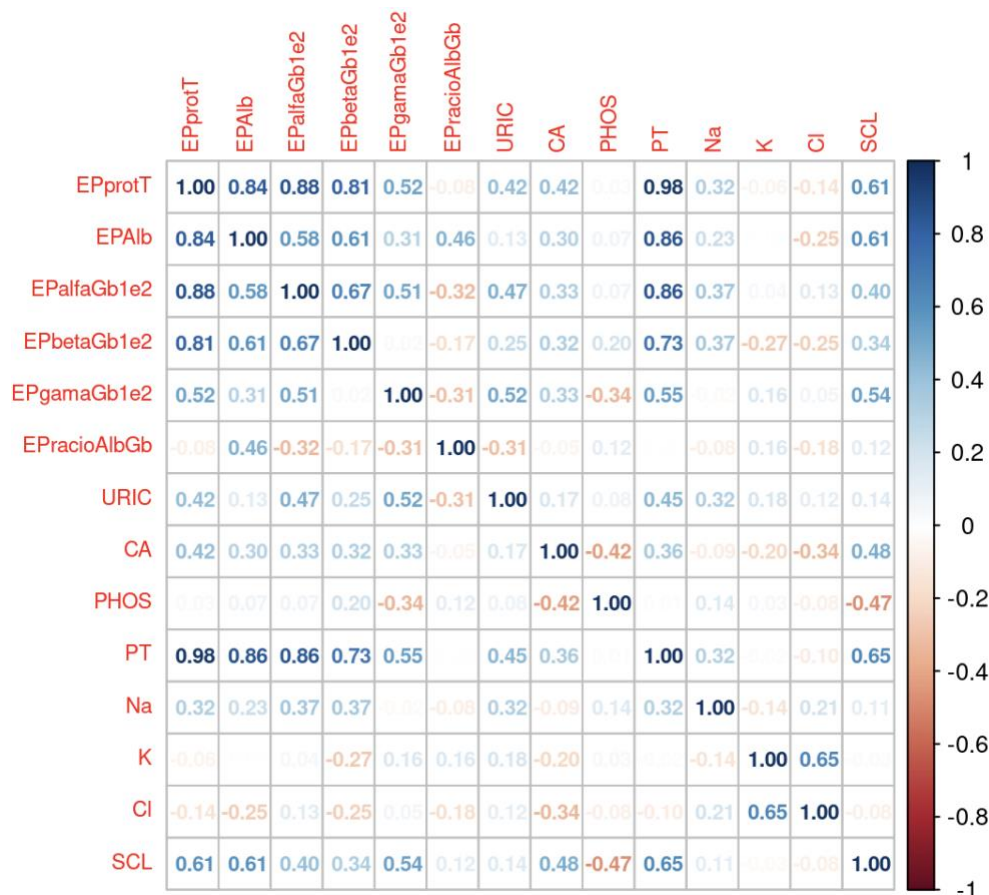


Figura 1: Matriz de correlação

EPprotT, concentração de proteínas totais da EP; EPAIb, concentração de albumina da EP; EPalfaGb1e2, concentração das alfa globulinas 1 e 2 da EP; EPbetaGb1e2, concentração de beta globulinas 1 e 2 da EP; EPgamaGb1e2, concentração de gama globulinas 1 e 2 da EP; EPracioAlbGb, rácio albumina e globulinas; URIC, concentração de ácido úrico; CA, concentração de cálcio; PHOS, concentração de fósforo; PT, concentração de proteínas totais da análise bioquímica; Na, concentração de sódio; K, concentração de potássio; Cl, concentração de cloro; SCL (Straight Carapace Length), comprimento reto da carapaça

3.2 IDENTIFICAÇÃO DOS PERFIS ESPECÍFICOS

3.2.1 Traumas

No exame clínico, as tartarugas Cc3474, Cc3477, Cc3479, Cc3480, Cc3491, Cc3493, Cc3495 e Cc3498 apresentavam todas sinais de traumas, tais como feridas com diferentes graus de profundidade ou fraturas ósseas. Nos gráficos dos indivíduos (Figura 2), elas encontram-se agrupadas por apresentar valores menores em relação aos valores da totalidade das amostras, de proteínas totais, entre 12,6 g/L e 22,1 g/L (media 22,33 g/L), de albumina, entre 3,5 g/L e 7,3 g/L (media 7,47 g/L), e um baixo rácio albumina:globulinas, entre 0,49 e 0,54 (media 0,51). Observa-se que os indivíduos Cc3474 e Cc3498

que sofriam de fraturas ósseas, apresentam níveis mais elevados de alfa-globulina, 5,1 g/L e 4,2 g/L respetivamente (media 4,6 g/L), assim como de beta-globulina, 6,7 g/L e 8,9 g/L respetivamente (media 7,46 g/L).

O indivíduo Cc3491 encontra-se afastado do grupo por ter um rácio albumina:globulina elevado, ou seja 0,86, o nível mais elevado do conjunto de amostras (media 0,51). Para além disso, este indivíduo apresenta níveis baixos de potássio e de cloro, 2,33 mmol/L (primeiro quartil 2,72 mmol/L, media 3,27 mmol/L) e 109,4 mmol/L (primeiro quartil 116,7 mmol/L, media 122,07 mmol/L) respetivamente.

Neste grupo os indivíduos Cc3480 e Cc3491 apresentavam também sinais de afeções pulmonares no exame tomo-densitométrico.

3.2.2 Afeções pulmonares

As tartarugas Cc3475, Cc3480, Cc3481, Cc3482, Cc3491, Cc3509, Cc3511, e Cc3512 apresentavam sinais de afeções pulmonares no exame clínico, tais como, falha de flutuação devida à presença de ar na cavidade celómica, esforço respiratório ou roncos. Elas apresentavam também alterações pulmonares na tomografia, compatíveis com presença de nódulos, focos de pneumonias e processos infecciosos bacterianos ou fúngicos. Ao observar os gráficos dos indivíduos, elas parecem seguir os vetores representando a albumina e o rácio albumina:globulina, sugerindo valores relativamente elevados para estes parâmetros, entre 7,9 g/L e 10,5 g/L (media 7,47 g/L) e entre 0,55 e 0,86 (media 0,51), respetivamente. Relativamente às outras frações proteicas, elas apresentam níveis mais elevados de beta-globulina, entre 5,7 g/L e 9,2 g/L (media 5,46 g/L) e concentrações menores de gama-globulina, entre 0,6 g/L e 3,7 g/L (media 2,82 g/L). Os indivíduos Cc3475 e Cc3480 constituem exceções por terem níveis relativamente baixos de albumina, 6,6 g/L e 3,5 g/L e, consequentemente, um fraco rácio albumina:globulina, 0,37 e 0,48.

3.2.3 Debilidade física inespecífica

No exame clínico, as tartarugas Cc3416, Cc3437, Cc3441, Cc3444, Cc3446, Cc3447, Cc3459, Cc3472, Cc3473, Cc3478, Cc3488, Cc3492, Cc3494 e Cc3499 não manifestavam outros sintomas além dos relacionados à fraqueza física. Elas apresentavam-se debilitadas, com hipoglicemia, hipotermia, hipocalcemia e desidratação. Nos gráficos dos indivíduos (Figura 2), elas encontram-se agrupadas por apresentarem valores mais elevados do que o restante das amostras para as frações proteicas; entre 24 g/L e 29,5 g/L (media 22,33 g/L) de proteínas totais, entre 5,9 g/L e 9,6 g/L (media 7,47 g/L) de albumina, entre 3,4 g/L e 6,6 g/L (media 4,59 g/L) de alfa-globulina e entre 5,9 g/L e 12,7 g/L (media

7,46 g/L) de beta-globulina. Neste grupo, os indivíduos Cc3446 e Cc3488 são exceções por terem níveis mais baixos de proteínas totais; 19,5 g/L e 15,1 g/L respetivamente, de albumina; 6,4 g/L e 4,5 g/L respetivamente, de alfa-globulina; 4 g/L e 2,7 g/L respetivamente, e de beta-globulina; 5,4 g/L e 3,8 g/L respetivamente. O indivíduo Cc3447 morreu 44 dias após a sua admissão no centro. Ele tinha níveis ainda mais baixos das frações proteicas; 13 g/L de proteínas totais (primeiro quartil 18,85 g/L), 3,1 g/L de albumina (a concentração mais baixa apresentada no conjunto de amostras), 2,9 g/L de alfa-globulina (primeiro quartil 3,33 g/L), 5,3 g/L de beta-globulina (primeiro quartil 5,63 g/L) e um rácio albumina:globulina de 0,32 (primeiro quartil 0,45).

O indivíduo Cc3441 encontra-se afastado do restante das amostras em todas as dimensões da ACP. Os seus resultados de EP apresentam valores particularmente elevados; 37,7 g/L de proteínas totais (o valor mais elevado nas amostras), 9,8 g/L de albumina (terceiro quartil 9,35 g/L), 8,8 g/L de alfa-globulina (o valor mais elevado nas amostras), 13,1 g/L de beta-globulina (o valor mais elevado nas amostras), 6 g/L de gama-globulina (terceiro quartil 3,98 g/L) e, consequentemente, um baixo rácio albumina:globulina de 0,35 (primeiro quartil 0,45). Relativamente à bioquímica, ele apresenta o valor máximo nas amostras em ácido úrico, 54 mg/L.

Relativamente à concentração de gama-globulina esta apresenta variações dependendo do período em que os indivíduos foram recolhidos. Assim, a média do nível de gama-globulina dos sete indivíduos encontrados no outono de setembro a dezembro é de 4,12 g/L, enquanto a média registada para os vinte e um indivíduos encontrados no inverno de janeiro a fevereiro é de 2,39 g/L.

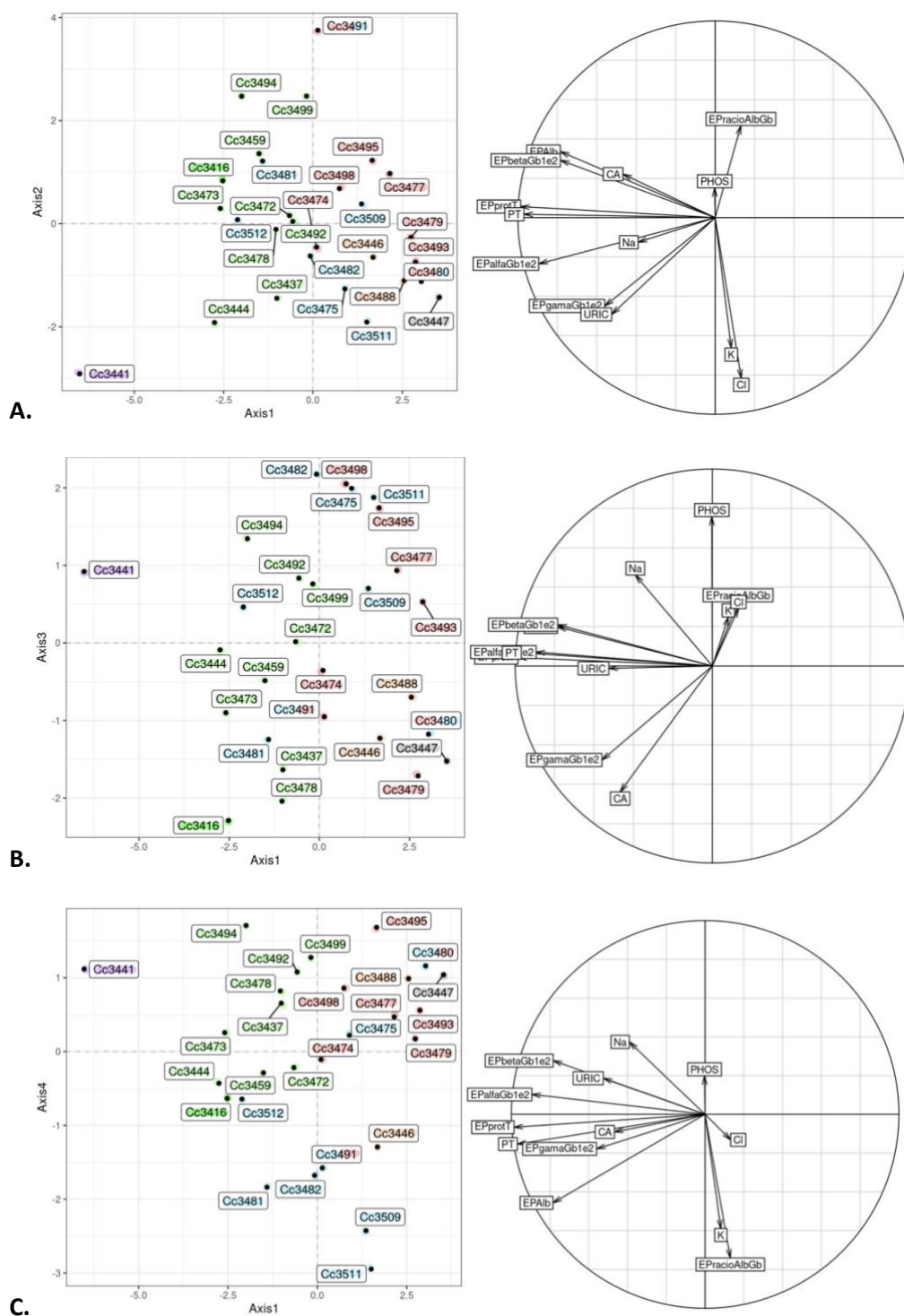


Figura 2: ACP das EP, bioquímicas e ionogramas - Gráficos dos indivíduos e os círculos das correlações correspondentes

No eixo 1, os parâmetros EPprotT, EPAIb, EPalfaGb1e2, EPbetaGb1e2, e PT estão considerados. No eixo 2 os parâmetros EPgamaGb1e2, EPracioAlbGb, URIC, K e Cl estão considerados (A.). No eixo 3 os parâmetros EPgamaGb1e2, Ca, PHOS e Na estão considerados (B.). No eixo 4 os parâmetros EPAIb, EPracioAlbGb, e K estão considerados (C.).

(EPprotT = proteínas totais da EP, EPAIb = albumina da EP, EPalfaGb1e2 = alfa-globulinas 1 e 2 da EP, EPbetaGb1e2 = beta-globulinas 1 e 2 da EP, EPgamaGb1e2 = gama-globulinas 1 e 2 da EP, EPracioAlbGb = rácio albumina:globulinas da EP, URIC = ácido úrico, CA = cálcio, PHOS = fósforo, PT = proteínas totais, Na = sódio, K = potássio, Cl = cloro).

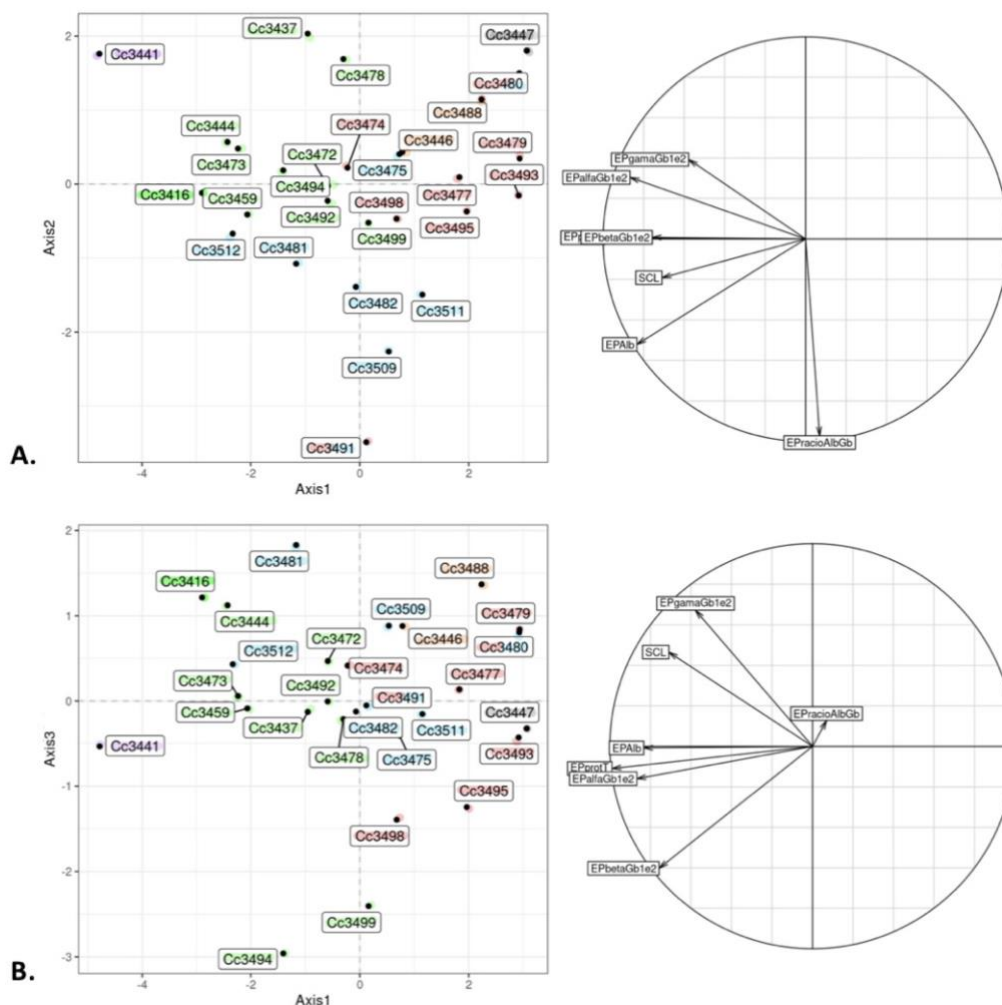


Figura 3: ACP das EP - Gráficos dos indivíduos e os círculos das correlações correspondentes

No eixo 1, os parâmetros EPprotT, EPAIb, EPalfaGb1e2 e EPbetaGb1e2, estão considerados. No eixo 2 os parâmetros EPAIb e EPracioAlbGb estão considerados **(A.)**. No eixo 3 os parâmetros EPbetaGb1e2, EPgamaGb1e2, e SCL estão considerados **(B.)**

(EPproT = proteínas totais da EP, EPAlb = albumina da EP, EPalfaGb1e2 = alfa-globulinas 1 e 2 da EP, EPbetaGb1e2 = beta-globulinas 1 e 2 da EP, EPgamaGb1e2 = gama-globulinas 1 e 2 da EP, EPracioAlbGb = rácio albumina:globulinas da EP).

4 DISCUSSÃO

As concentrações das diferentes proteínas plasmáticas podem ser influenciadas por diversos fatores que afetam a condição fisiológica de um animal. A titulação das proteínas presentes no sangue já é utilizada em medicina veterinária como recurso para o diagnóstico diferencial de algumas doenças, tais como a erliquiose ou a peritonite infecciosa felina (PIF). Embora não permita obter um diagnóstico preciso e definitivo, é uma análise relevante na área da reabilitação da fauna selvagem em particular, que apresenta frequentemente síndromes de debilidade com sintomas inespecíficos (Jania &

Andraszek, 2016). Por não apresentar relações com os elementos bioquímicos, a EP oferece informações suplementares e proporciona uma visão inicial valiosa sobre o estado de saúde global dos animais.

O papel das diferentes frações proteicas sanguíneas é bem descrito em mamíferos domésticos, no entanto, a informação disponível para os répteis é escassa. Primeiramente, a albumina é a proteína mais abundante no plasma sanguíneo. Ela age como proteína transportadora para vários componentes da circulação sanguínea, como hormonas ou outras moléculas, e desempenha um papel crucial na regulação do volume sanguíneo e da pressão osmótica. Uma diminuição da concentração de albumina pode indicar a presença de um processo inflamatório, sendo, por isso, considerada uma proteína negativa da fase aguda ou de danos hepáticos. Em caso de privação prolongada de alimentos e anorexia, o nível de albumina pode também diminuir por falta de aminoácidos e redução da síntese hepática. Assim, uma disfunção hepática pode constituir uma hipótese plausível para o indivíduo Cc3446 deste estudo, que, após uma tentativa malsucedida de libertação, foi novamente admitido no centro de reabilitação após dois dias (Jania & Andraszek, 2016, Osborne et al., 2010). Tal como já foi descrito, a albumina apresenta um grande potencial em termos de prognóstico de sobrevivência das tartarugas marinhas. De acordo com o estudo de Carolyn Cray (2021), uma concentração de albumina superior a 4 g/L representa um bom prognóstico para o animal. Contraditoriamente, a concentração de albumina do indivíduo Cc3447, que faleceu após a sua chegada ao centro de reabilitação, era de 3,1 g/L.

Em seguida, as alfa-globulinas incluem a ceruloplasmina, que tem um papel no transporte do cobre e no metabolismo do ferro, assim como a haptoglobina. As proteínas da fase aguda em tartarugas correspondem à alfa e beta globulinas. Concretamente, o fibrinogénio, uma proteína específica da fase aguda, corresponde às beta-globulinas. Dessa forma, os achados sobre as tartarugas que apresentam traumas são coerentes: um processo inflamatório pós-traumático resulta numa diminuição dos níveis de albumina, acompanhada de um aumento das proteínas da fase aguda as alfa e beta-globulinas, resultando consequentemente numa diminuição do rácio albumina:globulinas. A transferrina, responsável pelo transporte do ferro, encontra-se nas gama-globulinas. Estas incluem também as imunoglobulinas tais como, as IgA, produzidas como primeira defesa ao nível das mucosas, as IgM, secretadas pelos linfócitos para ativar o complemento, e as IgG, produzidas mais tarde para permitir a fagocitose pelos macrófagos. Assim, os processos inflamatórios agudos tendem a diminuir os níveis de albumina e aumentar os níveis de alfa e beta-globulinas, por incluir proteínas da fase aguda, enquanto, as patologias crónicas aumentam os níveis de beta e gama-globulinas, por incluir as imunoglobulinas. Nas tartarugas apresentando sinais respiratórios, os níveis relativamente aumentados de beta-

globulina podem ser explicados por ambos, processos agudos ou crônicos de infecções bacterianas ou fúngicas. Além disso, os baixos níveis de gama-globulina podem ser atribuídos à deficiência do sistema imunitário que ocorre na chegada do inverno, uma vez que todas as tartarugas que apresentavam sinais respiratórios foram admitidas no centro de reabilitação a partir do mês de janeiro (Gicking et al., 2004, Melillo, 2013). Ao contrário delas, a maioria das tartarugas apresentando apenas sintomas relacionados com debilidade física foi encontrada durante o outono ou nos primeiros dias do inverno. Para além disso, os níveis de gama-globulina durante o outono eram superiores aos observados durante o inverno, apoiando o facto que a eficiência do seu sistema imunitário varia com a temperatura da água (Nash & Ryan, 2023).

O indivíduo Cc3441 apresentou o maior nível de proteínas totais e um baixo rácio albumina:globulina devido às suas concentrações elevadas de globulinas. Após a sua admissão ao centro de reabilitação, esta tartaruga desenvolveu lesões cutâneas abrasivas multifocais e difusas. Um esfregaço cutâneo revelou a presença de bactérias das espécies *Pseudomonas mendocina* e *Citrobacter freundii*. No estudo de Knotkova et al. (2019), duas iguanas verdes (*Iguana iguana*) apresentavam também lesões cutâneas. As EP realizadas revelaram também níveis elevados de proteínas totais com uma alta concentração de beta-globulina para um dos indivíduos e altas concentrações de alfa, beta e gama-globulina com um baixo rácio albumina:globulina sem diminuição da albumina para o segundo indivíduo. Essas alterações nas concentrações de proteínas plasmáticas podem indicar danos sistémicos em répteis. Adicionalmente, o indivíduo Cc3441 apresentou hiperuricemia marcada. Quatro das iguanas do estudo de Knotkova et al. (2019) apresentavam também hiperuricemia associada a danos renais tais como, insuficiência renal ou degeneração do tecido renal. Assim, uma outra hipótese pode incluir danos renais, uma vez que nos répteis, o ácido úrico representa um indicador da função renal (Anderson, Eric T. et al., 2011, Knotkova et al., 2019).

Em suma, mesmo se exames clínicos complementares continuem a ser necessários para obter diagnósticos definitivos individuais, a EP permite avaliar globalmente o estado de saúde dos animais e direcionar o diagnóstico, em conjunto com sintomas clínicos, para inflamações agudas, crónicas ou danos sistémicos. Contudo, a sua utilização apresenta limitações relacionadas com a execução da análise e a fisiologia dos animais. Assim, a refrigeração das amostras durante mais de dois dias altera as concentrações de albumina e de beta-globulina. Além disso, no caso de tartarugas admitidas em centro de reabilitação, o momento da recolha da amostra também tem influência nos resultados. Pode acontecer que estas tartarugas permaneçam várias horas em tanques com pouca água durante a viagem antes de chegar ao centro de reabilitação. Neste período, o jejum, as alterações osmóticas do ambiente e o stress intenso podem conduzir à alteração das proteínas sanguíneas (Alberghina et

al., 2015, Stacy et al., 2018). É importante mencionar que a realização destas análises em espécies exóticas e selvagens apresenta dificuldades específicas relacionadas com a falta de definição de intervalos de referência para as diferentes frações proteicas. Adicionalmente, sabe-se que existe uma diferença nas concentrações de proteínas plasmáticas entre machos e fêmeas nas *Caretta caretta* sem que a causa exata seja conhecida, sendo que na população estudada, o sexo é indeterminado por se tratarem de animais juvenis (Cray, 2021; Gicking et al., 2004). Assim, apesar de a EP poder constituir uma ferramenta muito útil na medicina de animais selvagens, em geral, e das tartarugas marinhas, em particular, esta análise poderá atingir o seu potencial máximo quando existirem valores de referência para cada espécie, cada sexo, cada estágio de desenvolvimento e considerando a época do ano (Melilla, 2023).

Para a continuação deste estudo, seria interessante estabelecer um perfil electroforético desejável, realizando sistematicamente uma nova EP no final dos tratamentos e antes de libertar cada animal. Desta forma, os resultados das tartarugas para as quais a libertação foi bem-sucedida poderiam servir como um modelo para a decisão das futuras libertações (Figura 6, em anexo). Também no sentido de seguir a evolução da inflamação, um hemograma e uma contagem manual das células sanguíneas podem ser realizados. Seria igualmente pertinente separar as tartarugas encontradas no outono das tartarugas encontradas no inverno nas análises estatísticas de forma a uniformizar as EP e avaliar as perturbações específicas de cada indivíduo. Além disso, o potencial prognóstico relacionado com a dosagem da albumina deveria ser explorado, examinando os resultados nas tartarugas que não sobreviveram durante a reabilitação. Este estudo sugere que a EP fornece informações cruciais para a reabilitação das tartarugas marinhas. Assim, uma pesquisa mais aprofundada poderia provar definitivamente que essa análise pode constituir uma ferramenta valiosa no campo da medicina de animais exóticos e selvagens, auxiliando na decisão relativa a devolução à natureza dos animais e garantindo-lhes uma probabilidade máxima de sobrevivência. Mais particularmente no caso das tartarugas marinhas, que são espécies sentinelas, para além de fornecer informações sobre a saúde dos animais, reflete indiretamente a saúde do ecossistema, uma vez que o sistema imunitário inato das tartarugas marinhas é muito sensível as alterações do meio ambiente (Nash & Ryan, 2023).

Em conclusão, para espécies não convencionais ou selvagens, a EP tem uma importância particular. A sua principal utilização está centrada na avaliação das respostas imunológicas agudas e humorais, incluindo a medição da albumina e das frações que refletem o aumento dos indicadores de fase aguda e das imunoglobulinas. Os resultados afiguram-se cruciais para obter um prognóstico, e um diagnóstico, e avaliar a saúde global dos animais com o objetivo a sua reabilitação (Cray, 2021; Dartois Hubert, 2011).



5 REFERÊNCIAS

1. Alberghina, D., Marafioti, S., Spadola, F., Panzera, M., & Piccione, G. (2015). *Influence of short-term storage conditions on the stability of total protein concentrations and electrophoretic fractions in plasma samples from loggerhead sea turtles, Caretta caretta. Comparative Clinical Pathology*, 24(5), 1091–1095. <https://doi.org/10.1007/s00580-014-2038-z>
2. Anderson, Eric T., Harms, Craig A., Stringer, Elizabeth M., & Cluse, Wendy M. (2011). *Evaluation of Hematology and Serum Biochemistry of Cold-Stunned Green Sea Turtles (Chelonia mydas) in North Carolina, USA. Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 42(2), 247–255. <https://doi.org/10.1638/2010-0217.1>
3. Cray, C. (2021). *Protein electrophoresis of non-traditional species: A review. Veterinary Clinical Pathology*, 50(4), 478–494. <https://doi.org/10.1111/vcp.13067>
4. Dartois, H. R. (2011). *Contribution à la mise en oeuvre d'une méthode d'analyse des protéines sériques par électrophorèse en gel d'agarose à l'ENVA. Thèse pour le doctorat vétérinaire, École Nationale Vétérinaire d'Alfort.*
5. Gicking, J., Foley, A., Harr, K., Raskin, R., & Jacobson, E. (2004). *Plasma Protein Electrophoresis of the Atlantic Loggerhead Sea Turtle, Carretta carretta. Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 14, 13–18. <https://doi.org/10.5818/1529-9651.14.3.13>
6. Jania, B., & Andraszek, K. (2016). *Application of native agarose gel electrophoresis of serum proteins in veterinary diagnostics. Journal of Veterinary Research*, 60(4), 501–508. <https://sciendo.com/article/10.1515/jvetres-2016-0074>
7. Knotkova, Z., Musilova, A., Pinterova, K., & Knotek, Z. (2019). *Plasma protein electrophoresis in green iguanas (Iguana iguana) suffering from hepatic, renal and inflammatory skin diseases. Veterinární Medicína*, 64(6), 271–279. https://econpapers.repec.org/article/caajnlvet/v_3a64_3ay_3a2019_3ai_3a6_3aid_3a5-2019-vetmed.htm
8. Lutz, P., Musick, J., & Wyneken, J. (2002). The biology of Sea Turtles, volume II, sea turtles husbandry, in: DOI: 10.1201/9781420040807.ch16
9. Manire, C. A., Norton, T. M., Stacy, B. A., Innis, C. J., & Harms, C. A. (2017). Sea Turtles health and rehabilitation.
10. Melillo, A. (2013). Applications of Serum Protein Electrophoresis in Exotic Pet Medicine. The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice, 16(1), 211–225. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2012.11.002>

11. Müller, K., & Brunnberg, L. (2010). *Determination of plasma albumin concentration in healthy and diseased turtles: a comparison of protein electrophoresis and the bromocresol green dye-binding method*. *Veterinary Clinical Pathology*, 39(1), 79–82. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2009.00177.x>
12. Nash, A., & Ryan, E. J. (2023). *Immunity in Sea Turtles: Review of a Host-Pathogen Arms Race Millions of Years in the Running*. *Animals*, 13(4), 556. <https://doi.org/10.3390/ani13040556>
13. Osborne, A. G., Jacobson, E. R., Bresette, M. J., Singewald, D. A., Scarpino, R. A., & Bolten, A. B. (2010). Reference intervals and relationships between health status, carapace length, body mass, and water temperature and concentrations of plasma total protein and protein electrophoretogram fractions in Atlantic loggerhead sea turtles and green turtles. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 237(5), 561–567. <https://doi.org/10.2460/javma.237.5.561>
14. Rousselet, E., Stacy, N., LaVictoire, K., Higgins, B., Tociłowski, M., Flanagan, J., & Godard-Codding, C. (2013). *Hematology and plasma biochemistry analytes in five age groups of immature, captive-reared loggerhead sea turtles (Caretta caretta)*. *J Zoo Wildl Med*, 44, 859–874. <https://doi.org/10.1638/2012-0162R1.1>
15. Stacy, N. I., Bjørndal, K. A., Perrault, J. R., Martins, H. R., & Bolten, A. B. (2018). *Blood analytes of oceanic-juvenile loggerhead sea turtles (Caretta caretta) from Azorean waters: reference intervals, size-relevant correlations and comparisons to neritic loggerheads from western Atlantic coastal waters*. *Conservation Physiology*, 6(1), coy006. <https://doi.org/10.1093/conphys/coy006>

6 ANEXOS

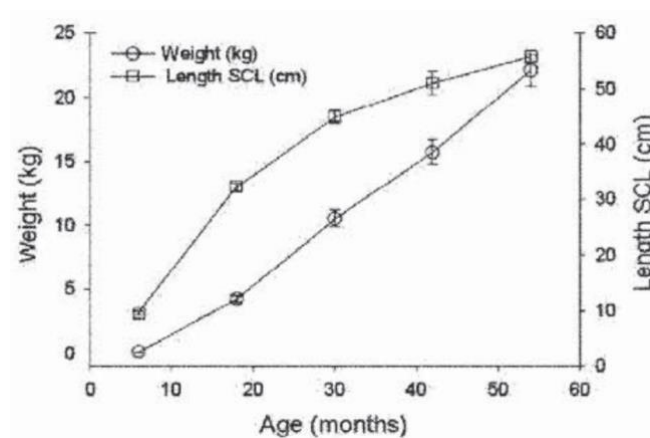


Figura 4: Peso corporal em correlação com SCL em cinco grupos de idade em tartaruga comum

(Rousselet et al. 2013)

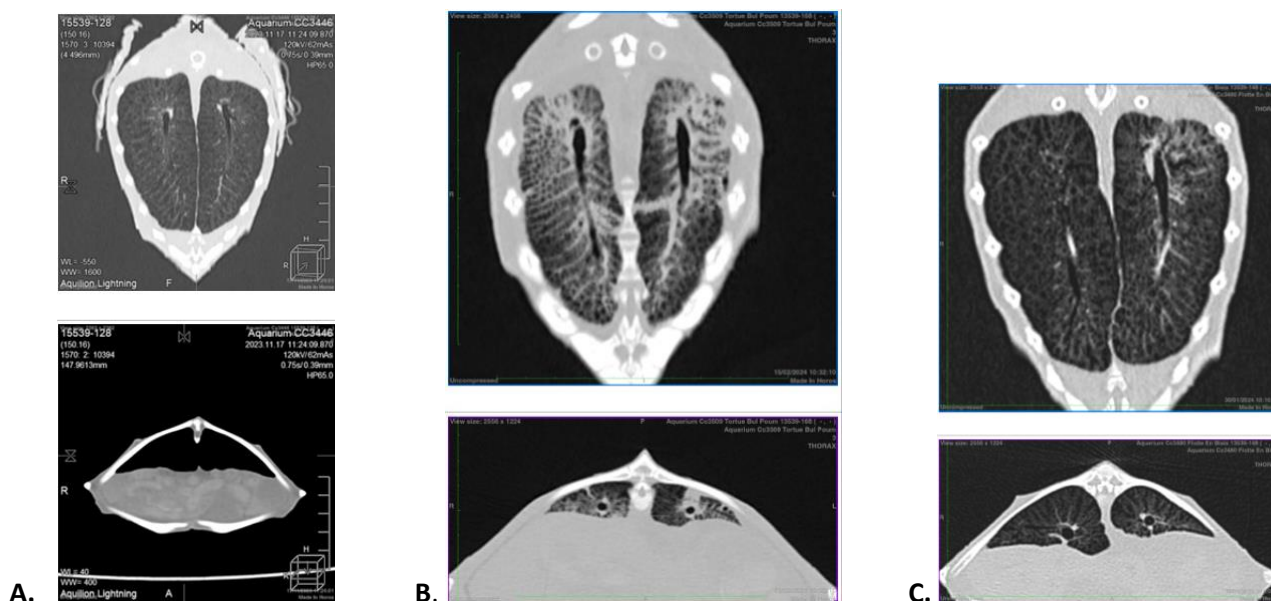


Figura 5: Exemplos de exames tomo-densitométricos, vista dorsoventral e caudo-cranial

Indivíduo Cc3446, ausência de anomalia significativa (A.) Indivíduo Cc3409, lesões pulmonares parenquimatosas difusas, bilaterais, associada a uma diminuição do volume pulmonar, pneumonia crônica de origem infecciosa ou inflamatória provável (B.) Indivíduo Cc3480, lesões difusas do parênquima esquerdo na região cranial, compatível com uma pneumonia crônica e uma assimetria pulmonar (C.)

(arquivos da clínica veterinária Saint Roch, La Rochelle)

Tabela 1: dados sanguíneos e biométricos dos indivíduos

Indivíduos	EPprotT (g/L)	EPAlb (g/L)	EPalfaGb1e2 (g/L)	EPbetaGb1e2 (g/L)	EPgamaGb1e2 (g/L)	EPpratioAlbGb	URIC (mg/L)	CA (mg/L)	PHOS (mg/L)	PT (g/L)	Na (mmol/L)	K (mmol/L)	Cl (mmol/L)	SCL (cm)
Cc3416	29,5	9,6	5,2	9,8	4,9	0,48	8	59	53,33	31	152,4	3,14	116,7	26,8
Cc3437	24,8	5,9	6,2	8,8	3,9	0,31	17	53	76,09	25	149,7	3,63	126,8	17,6
Cc3441	37,7	9,8	8,8	13,1	6	0,35	54	49	105,14	42	156,2	3,98	128,1	19,7
Cc3444	29,1	9,3	6,4	7,8	5,6	0,47	27	44	79,57	32	154,3	3,82	128,1	20,6
Cc3446	19,5	6,4	4	5,4	3,7	0,49	4	39	74,01	20	146,5	4,09	123,7	16
Cc3447	13	3,1	2,9	5,3	1,7	0,32	11	37	63,73	12	148	3,31	128,9	11,1
Cc3459	28,1	9,5	5,3	10,2	3,1	0,51	6	40	75,59	31	149,8	2,73	117,3	21,6
Cc3472	24,1	8,5	5,9	5,9	3,7	0,55	7	41	85,02	27	153,2	2,75	123,7	15,3
Cc3473	29,1	9,1	6	9,8	4,3	0,45	16	51	80,05	32	152,4	2,81	120,5	19,3
Cc3474	22,1	7,3	5,1	6,7	3	0,49	11	39	73,49	25	151,5	3,22	125,1	18,3
Cc3475	20,5	6,6	4,6	7	2,3	0,48	12	29	113,74	23	152,5	3,94	130,2	13,2
Cc3477	16,8	5,8	3,7	5,1	2,2	0,53	13	33	136,44	18	148	3,11	113,6	12,7
Cc3478	24,2	6,7	6,1	7,2	4,2	0,38	20	46	68,15	27	149,7	2,61	116,3	11,7
Cc3479	12,6	4,2	2,7	3,4	2,3	0,51	21	49	80,52	16	148,8	3,14	120,3	13,8
Cc3480	12,9	3,5	2,5	3,9	3	0,37	11	41	73,59	13	153,2	3,42	122,7	13,2
Cc3481	26,5	10,5	3,9	6	6,1	0,66	21	45	89,37	30	148,9	3,25	108,9	17,2
Cc3482	23,4	9,6	5,1	6,2	2,5	0,69	8	34	100,39	26	154	4,17	131,1	12,6
Cc3488	15,1	4,5	2,7	3,8	4,2	0,43	18	30	83,54	16	151	2,68	124,1	14
Cc3491	21,5	9,9	3,1	7,9	0,6	0,86	11	57	69,52	23	150,9	2,33	109,4	19,6
Cc3492	23,2	7,8	4,9	8,2	2,3	0,51	16	36	79,35	25	156,9	2,63	123,3	19,8
Cc3493	13,2	4,6	3,1	5	0,4	0,54	12	39	78,8	15	154,2	3,38	129,8	12,3
Cc3494	28,5	8,9	6,6	12,7	0,4	0,45	5	48	123,79	28	152,8	2,25	115,5	11,7
Cc3495	17,5	6,1	3,1	7,7	0,5	0,54	14	30	108,75	18	155,3	2,55	116,1	10,8
Cc3498	20,9	7,3	4,2	8,9	0,5	0,53	10	27	103,49	24	153,4	2,99	122,1	13,6
Cc3499	24	8	3,4	12,3	0,3	0,5	12	41	105,71	24	150,9	2,38	113,6	12,1
Cc3509	19,6	8,5	3,4	5,7	2	0,76	4	42	92,42	24	149	3,85	129,5	19,6
Cc3511	19,3	7,9	3,9	5,9	1,6	0,7	17	33	93,56	21	149,8	6,17	130,5	12,9
Cc3512	28,6	10,2	5,6	9,2	3,7	0,55	17	33	76,38	35	151,9	3,14	122,1	22,2

EPprotT, concentração de proteínas totais da EP; EPAlb, concentração de albumina da EP; EPalfaGb1e2, concentração das alfa globulinas 1 e 2 da EP; EPbetaGb1e2, concentração de beta globulinas 1 e 2 da EP; EPgamaGb1e2, concentração de gama globulinas 1 e 2 da EP; EPpratioAlbGb, rácio albumina e globulinas; URIC, concentração de ácido úrico; CA, concentração de cálcio; PHOS, concentração de fósforo; PT, concentração de proteínas totais da análise bioquímica; Na, concentração de sódio; K, concentração de potássio; Cl, concentração de cloro; SCL (Straight Carapace Length), comprimento reto da carapaça

Tabela 2: Resumo das medidas estatísticas e intervalos de referências

	Min	1o quartil	Media	Mediana	3o quartil	Max	Intervalos de referências (Rousselet et al (2013)).
EPprotT (g/L)	12,6	18,85	22,3321429	22,65	26,9	37,7	[13-23]
EPAlb (g/L)	3,1	6,05	7,46785714	7,85	9,35	10,5	[5-11]
EPalfaGb1e2 (g/L)	2,5	3,325	4,58571429	4,4	5,675	8,8	
EPbetaGb1e2 (g/L)	3,4	5,625	7,46071429	7,1	8,975	13,1	[7-13]*
EPgamaGb1e2 (g/L)	0,3	1,675	2,82142857	2,75	3,975	6,1	
EPracioAlbGb	0,31	0,45	0,51464286	0,505	0,5425	0,86	[0,7-0,9]
URIC (mg/L)	4	9,5	14,3928571	12	17	54	[3-11]
CA (mg/L)	27	33,75	40,8928571	40,5	46,5	59	[47-74]
PHOS (mg/L)	53,33	75,195	87,2689286	80,285	101,165	136,44	[51,4-88,5]
PT (g/L)	12	19,5	24,3928571	24,5	28,5	42	[13-23]
Na (mmol/L)	146,5	149,7	151,614286	151,7	153,25	156,9	[84-155]
K (mmol/L)	2,25	2,7175	3,26678571	3,14	3,6775	6,17	[2,1-4,7]
Cl (mmol/L)	108,9	116,6	122,071429	123	128,1	131,1	[63-122]
Glu (md/dL)	16	45	80,5555556	72	114	203	[131,8-175,2]
peso (kg)	0,162	0,331	0,84314286	0,541	1,3255	3,256	-
SCL (cm)	10,8	12,675	16,0464286	14,65	19,6	26,8	-

EPprotT, concentração de proteínas totais da EP; EPAlb, concentração de albumina da EP; EPalfaGb1e2, concentração das alfa globulinas 1 e 2 da EP; EPbetaGb1e2, concentração de beta globulinas 1 e 2 da EP; EPgamaGb1e2, concentração de gama globulinas 1 e 2 da EP; EPracioAlbGb, rácio albumina e globulinas; URIC, concentração de ácido úrico; CA, concentração de cálcio; PHOS, concentração de fósforo; PT, concentração de proteínas totais da análise bioquímica; Na, concentração de sódio; K, concentração de potássio; Cl, concentração de cloro; Glu, concentração de glucose; SCL (Straight Carapace Length), comprimento reto da carapaça

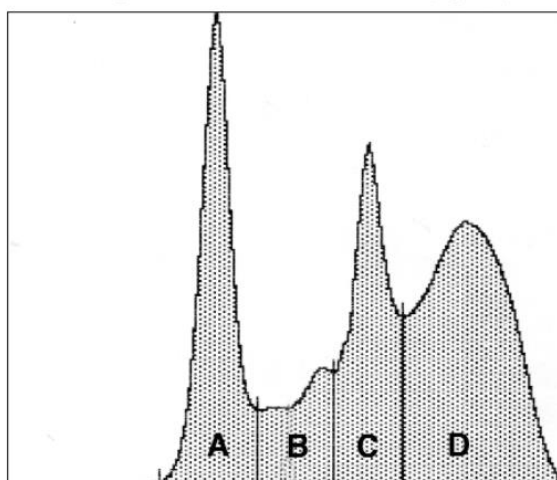


Figura 6: Representação do perfil eletroforetico para uma tartaruga comum (*Caretta caretta*).

As linhas verticais escuras da esquerda para a direita separam as diferentes frações proteicas, da albumina (A), alfa globulina (B), beta globulina (C) e gama globulina (D)

(Gicking et al. 2004)