

UNIVERSIDADE SANTO AMARO
PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTU SENSU*
EM MEDICINA E BEM-ESTAR ANIMAL

FRANSCINNE BRAIT NARITA

**ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS DE PINGUINS (*SPHENISCUS*
MAGELLANICUS) NA REPRODUÇÃO E O USO DE ALTAS
DILUIÇÕES.**

SÃO PAULO

2021

FRANSCINNE BRAIT NARITA

**ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS DE PINGUINS (*SPHENISCUS
MAGELLANICUS*) NA REPRODUÇÃO E O USO DE ALTAS
DILUIÇÕES.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós graduação *Strictu Sensu* em Medicina Veterinária e Bem-estar Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Santo Amaro para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Cidéli de Paula Coelho

SÃO PAULO

2021

N188a Narita, Franscinne Brait

Alterações hematológicas de pinguins (*Spheniscus magellanicus*) na reprodução e o uso de altas diluições / Franscinne Brait Narita. – São Paulo, 2021.

66 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária e Bem-Estar Animal) - Universidade Santo Amaro, 2021.

Orientador: Prof. Dr^a. Cidéli de Paula Coelho.

1. Homeopatia. 2. *Echinacea angustifolia*. 3. *Avena sativa*. Aves marinhas. I. Coelho, Cidéli de Paula, orient. II. Universidade Santo Amaro. III. Título.

Elaborada por Maria Lucélia S Miranda – CRB 8 / 7177

FRANSCINNE BRAIT NARITA

**ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS DE PINGUINS (*SPHENISCUS
MAGELLANICUS*) NA REPRODUÇÃO E O USO DE ALTAS
DILUIÇÕES.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação *Stricto Sensu* da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina e Bem-Estar Animal.

São Paulo, 10 de dezembro de 2021.

Banca Examinadora

Prof. Dra Renata Hurtado

Prof. Dr. Guilherme José da Costa Silva

Profa. Dra. Cidéli de Paula Coelho

Conceito final: _____

*Dedico este trabalho a todos os animais aquáticos,
principalmente aos pinguins, que tanto me
ensinaram e incentivaram, me proporcionando
muitos estudos, experiências e dedicação durante
toda a minha trajetória profissional.*

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a Deus, apesar de todos os desafios, pela oportunidade e por permitir mais esta conquista em minha vida.

Gostaria de agradecer aos meus pais, por proporcionar meus estudos e tudo em minha vida, para que eu pudesse chegar até aqui.

Gostaria de agradecer a minha irmã, que sempre me apoia e me incentiva na minha vida pessoal e profissional.

Gostaria de agradecer meu marido, por todo incentivo, amor, apoio, parceria, ajuda e compreensão nesses anos de dedicação exclusiva a profissão.

Agradeço a Universidade Santo Amaro pela bolsa de estudos concedida nestes dois anos de mestrado.

Agradeço a Profa. Dra. Cidéli, pela realização de mais um trabalho de sucesso, que além de orientadora, uma grande amiga.

Agradeço aos meus amigos que estiveram do meu lado em toda minha trajetória.

Agradeço a Sabina – Escola Parque do Conhecimento e ao Instituto Argonauta para Conservação Costeira e Marinha pela realização desse trabalho.

Agradeço a equipe de trabalho da Sabina: Catherina, Felipe, Gabriel, Maicon e Diego por apoiarem e participarem do projeto.

Agradeço a Farmácia Via Saúde por ceder as homeopantias para o projeto.

Agradeço as colegas da Unisa: Jéssica, Michele e Melina, pela parceira no decorrer do trabalho.

Agradeço ao Ralph, pela disposição e pronto atendimento para enriquecer o trabalho.

Agradeço a todos que de alguma forma fizeram parte da execução deste trabalho, mentalmente ou fisicamente.

E claro, gratidão a todos os pinguins da Sabina, pela sintonia nesses 4 anos.

RESUMO

Pinguins são aves marinhas, que na época reprodutiva possuem um gasto energético maior, além de alterações fisiológicas e imunológicas. A homeopatia na veterinária tem apresentado resultados práticos e vantagens sobre a medicina convencional. O objetivo deste trabalho é avaliar os parâmetros laboratoriais dos pinguins-de-Magalhães no período reprodutivo, também entre machos e fêmeas e determinar a ação dos medicamentos homeopáticos na resposta hematológica dos pinguins mantidos sob cuidados humanos. Os pinguins (N= 20 animais) foram avaliados no período reprodutivo e divididos em dois grupos, um grupo submetido ao tratamento com *Echinacea angustifolia* 6cH e *Avena sativa* 6cH (N = 10 animais), o outro grupo controle (N = 10 animais), trabalho em cego. Os pinguins foram submetidos a coleta de sangue antes e durante o período da reprodução. A análise de variância de duas vias (Two-Way ANOVA) foi utilizada para determinar se o grupo experimental (controle e verum) e o sexo do animal possuíam efeito significativo sobre a variação de cada parâmetro hematológico entre as amostras obtidas no início e no término do experimento (Δ variável = valor na coleta inicial – valor na coleta final). Para parâmetro hematológico em que o sexo não apresentou um efeito significativo, a análise de variância foi refeita utilizando o grupo experimental como uma única variável dependente (One-Way ANOVA). O nível de significância foi de 0.05 para todos os testes. A análise estatística identificou que em relação aos grupos experimentais (controle e verum) houve um efeito significativo sobre as seguintes variáveis: (a) volume corpuscular médio ($P = 0.049$), em que o grupo verum apresentou uma tendência de aumento (29.78 ± 52.95 fL) enquanto que o grupo controle mostrou uma tendência de estabilidade/redução (-3.08 ± 46.36 fL); (b) proporção de heterófilos ($P = 0.010$), em que o grupo verum apresentou uma tendência de aumento (8.38 ± 12.53 %) menos acentuada do que o grupo controle (18.00 ± 9.37 %); (c) concentração de linfócitos ($P = 0.001$), em que o grupo verum apresentou uma tendência de redução ($-4.39 \pm 2.21 \times 10^9$ células/L) menos acentuada do que o grupo controle ($-1.56 \pm 2.76 \times 10^9$ células/L); e (d) proporção de linfócitos ($P = 0.002$), em que o grupo verum apresentou uma tendência de redução (-6.75 ± 10.35 %) menos acentuada do que o grupo controle (-17.3 ± 8.73 %). Foi detectado um efeito significativo do sexo (mas não do grupo Verum) para as seguintes variáveis: (a) hematócrito ($P < 0.001$), em que as fêmeas apresentaram uma tendência de redução (-6.18 ± 5.63 %) enquanto que os machos mostraram uma tendência de estabilidade/aumento (0.56 ± 4.78 %); e (b) concentração de hemoglobina ($P = 0.005$), em que as fêmeas apresentaram uma tendência de redução (-2.86 ± 1.91 g/dL) mais intensa do que os machos (-1.14 ± 1.45 g/dL). Concluiu-se que comparando o efeito de coleta, antes e durante o período reprodutivo, entre os grupos, independente do tratamento, houve diferença em hemoglobina, hematócrito e linfócito. O tratamento com *Echinacea angustifolia* e *Avena sativa* resultou na manutenção dos linfócitos em período de reprodução em pinguins-de-Magalhães, auxiliando a imunidade das aves.

Palavras-chave: Homeopatia; *Echinacea angustifolia*; *Avena sativa*; Aves marinhas.

ABSTRACT

Penguins are sea birds that have higher energy expenditure as well as physiological and immunological changes during the breeding season. Veterinary homeopathy has shown practical results and advantages over conventional medicine. The objective of this study is to evaluate the laboratory parameters of Magellanic penguins during the reproduction period for males and females and to determine the action of homeopathic medicines in the hematological response of penguins kept under human care. The penguins (N= 20 animals) were evaluated during the reproductive period and were divided into two groups, one group was treated with *Echinacea angustifolia* 6cH and *Avena sativa* 6cH (N = 10 animals), the other group was a control group (N = 10 animals). The penguins were subjected to blood collection before and during the breeding period. Two-way analysis of variance (Two-Way ANOVA) was used to determine whether the experimental group (control and verum) and animal sex had a significant effect on the variation of each hematological parameter between the samples obtained at the beginning and at the end of the experiment (Δ variable = value in the initial collection – value in the final collection). For hematological parameter in which sex did not have a significant effect, the analysis of variance was performed using the experimental group as a single dependent variable (One-Way ANOVA). The significance level was 0.05 for all tests. Statistical analysis identified that in relation to the experimental groups (control and verum) there was a significant effect on the following variables: (a) mean corpuscular volume ($P = 0.049$), in which the verum group showed an increasing trend (29.78 ± 52.95 fL) while the control group showed a trend towards stability/reduction (-3.08 ± 46.36 fL); (b) proportion of heterophils ($P = 0.010$), in which the verum group showed an increasing trend (8.38 ± 12.53 %) less marked than the control group (18.00 ± 9.37 %); (c) lymphocyte concentration ($P = 0.001$), in which the verum group showed a trend of reduction ($-4.39 \pm 2.21 \times 10^9$ cells/L) less marked than the control group ($-1.56 \pm 2.76 \times 10^9$ cells/L); and (d) proportion of lymphocytes ($P = 0.002$), in which the verum group showed a trend of reduction (-6.75 ± 10.35 %) less marked than the control group (-17.3 ± 8.73 %). A significant effect of sex (but not of the Verum group) was detected for the following variables: (a) hematocrit ($P < 0.001$), in which females showed a tendency to decrease (-6.18 ± 5.63 %) while males did a trend of stability/increase (0.56 ± 4.78 %); and (b) hemoglobin concentration ($P = 0.005$), in which females showed a trend of reduction (-2.86 ± 1.91 g/dL) more intense than males (-1.14 ± 1.45 g/dL). It was concluded that comparing the collection effect, the first one before the reproductive period with the second one during the reproductive period, between both groups, regardless of treatment, there was difference in hemoglobin, hematocrit and lymphocyte. The treatment with *Echinacea angustifolia* and *Avena sativa* resulted in the maintenance of lymphocytes during the reproductive period of Magellanic penguins, improving the birds' immunity.

Keywords: Homeopathy; *Echinacea angustifolia*; *Avena sativa*; Sea birds.

Lista de Figuras

Figura	1	–	Pinguim-de-Magalhães (<i>Spheniscus magellanicus</i>).....	04
Figura	2	–	Colônia reprodutiva de Pinguim-de-Magalhães (<i>Spheniscus magellanicus</i>).....	04
Figura	3	–	Casal de Pinguim-de-Magalhães com comportamento sexual.....	07
Figura	4	–	Cópula de casal de Pinguim-de-Magalhães	08
Figura	5	–	Casais de Pinguins-de-Magalhães incubando os ovos	09
Figura	6	–	Evolução do nascimento a juvenil de Pinguim-de-Magalhães.....	09
Figura	7	–	Fotografia da <i>Avena Sativa</i>	15
Figura	8	–	Fotografia da <i>Echinacea angustifolia</i>	17
Figura	9	–	Recinto dos pinguins na Sabina Escola Parque do Conhecimento (vista interna)	24
Figura	10	–	Recinto dos pinguins na Sabina Escola Parque do Conhecimento (vista externa)	24
Figura	11	–	Instalação dos ninhos.....	26
Figura	12	–	Ninhos montados pelos pinguins.....	26
Figura	13	–	Grupos dos pinguins separados com a medicação controle e verum identificadas pela cor	27
Figura	14	–	Homeopatia colocada dentro do peixe	28
Figura	15	–	Alimentação dos pinguins com a homeopatia dentro do peixe	28
Figura	16	–	Coleta de sangue e esfregaço sanguíneo.....	29
Figura	17	–	Fixador de lâmina e sangue armazenado em microtubo com heparina.....	30
Figura	18	–	Identificação das células.....	32
Figura	19	–	Desenho esquemático do projeto	33
Figura	20	-	Diagrama de caixas (boxplot) comparando a contagem total de eritrócitos, o volume corpuscular médio (VCM), a hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em amostras de sangue colhidas ao início (vermelho) e ao término (azul) do experimento.....	35

Figura 21 -	Diagrama de caixas (boxplot) comparando a concentração plasmática de sólidos totais e de leucócitos totais em amostras de sangue colhidas ao início (vermelho) e ao término (azul) do experimento.....	36
Figura 22 -	Diagrama de caixas (boxplot) comparando o hematócrito e a concentração de hemoglobina em amostras de sangue colhidas ao início (vermelho) e ao término (azul) do experimento.....	36
Figura 23 -	Diagrama de caixas (boxplot) comparando a concentração total e a proporção relativa de heterófilos e linfócitos em amostras de sangue colhidas ao início (vermelho) e ao término (azul) do experimento.....	37
Figura 24 -	Diagrama de caixas (boxplot) comparando a concentração total e a proporção relativa de eosinófilos e monócitos em amostras de sangue colhidas ao início (vermelho) e ao término (azul) do experimento.....	38

Lista de Tabelas

Tabela	1	–	Fotoperíodo do pinguinário da Sabina Escola Parque do Conhecimento.....	25
Tabela	2	–	Sumário dos resultados hematológicos (média $\pm$ desvio-padrão) obtidos nas duas amostras colhidas (início e término do experimento) para dois grupos experimentais (controle e verum)	34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Pinguins.....	2
2.2 Pinguins de Magalhães	3
2.2.1 Período Reprodutivo	6
2.3 Homeopatia	11
2.3.1 Medicamentos.....	14
2.3.2 <i>Avena sativa</i>	14
2.3.3 <i>Echinacea angustifolia</i>	15
2.4 Hemograma	17
2.5 Morfologia dos diferentes tipos celulares em aves	19
2.5.1 Eritrócitos.....	19
2.5.2 Leucócitos.....	20
2.5.3 Heterófilos.....	20
2.5.4 Linfócitos	21
2.5.5 Eosinófilos	22
2.5.6 Basófilos	22
2.5.7 Monócitos.....	22
3 OBJETIVOS.....	23
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Animais.....	24
4.2 Procedimentos.....	24
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	333
6 RESULTADOS	344
7 DISCUSSÃO	349
8 CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	44
ANEXO A	52
ANEXO B	53

1 INTRODUÇÃO

A ordem aviária Sphenisciformes (pinguins), inclui uma família e seis gêneros, é considerado o grupo mais ameaçado de aves marinhas junto com espécies da ordem Procellariiformes, composto por petréis e albatrozes. Cinco das 18 espécies de pinguins estão atualmente listados como ameaçados, com degradação de habitats terrestre, poluição e atividades pesqueiras que representam causas primárias do declínio da população (TRATHAN *et al.*, 2015; IUCN, 2021).

O gênero *Spheniscus* é composto por quatro espécies, com exceção do pinguim-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*), os demais são classificados como ameaçados de extinção (vulneráveis ou em perigo). Atualmente o pinguim-de-Magalhães está listado como “Least Concern” – menos preocupante, se aproximando do limite para listagem como quase ameaçado, em resposta às tendências de declínio da população (BirdLife International, 2021; IUCN, 2021).

O pinguim-de-Magalhães se reproduz nas costas do Atlântico e Pacífico da América do Sul na Argentina, Chile e nas Ilhas Falklands (Malvinas). A população global é estimada entre 1,1 e 1,6 milhões de pares reprodutores, com cerca de 900.000 pares ao longo da costa argentina, pelo menos 100.000 pares nas Ilhas Falklands (Malvinas) e entre 144.000 e 500.000 pares no Chile (BOERSMA *et al.* 2013, 2015).

O pinguim-de-Magalhães está ameaçado pela poluição, interação com a pesca por meio de mortalidade por captura acidental e impactos das mudanças climáticas (BOERSMA; REBSTOCK 2014; MARINAO *et al.* 2014; CRAWFORD *et al.* 2017).

O período migratório anual dos pinguins inicia-se logo após o término da troca de penas, que está relacionada ao término do período reprodutivo. Tanto a muda quanto o período reprodutivo há um grande desgaste físico, acredita-se que são os momentos mais frágeis do ciclo de vida dos pinguins (BOERSMA *et al.* 2013).

A medicina homeopática surgiu através do médico alemão Christian Frederick Samuel Hahnemann, nascido em Meissen, Alemanha, em 1755, a partir de experimentações observacionais protocolares minuciosas no homem são. Sua denominação, de origem grega, *homoiosis* e *pathos*, designa moléstia semelhante (PUSTIGLIONE, 2018).

Em 1790, foi o início do que viria a ser a arte de curar homeopática, Hahnemann trabalhando na tradução de uma Matéria Médica sobre a utilização de *China officinalis* no tratamento de malária, experimentou a *China officinalis*, em si mesmo. Ao se deparar com os efeitos descritos pela ingestão de doses ponderais da *China officinalis*, ele constatou que todos os sintomas da malária surgiram de forma branda em seu organismo. Pôde assim constatar a “Lei da Semelhança”, já descrita anteriormente por Hipócrates (*Similia similibus curentur*). Sendo assim, seguindo em experimentações de outras substâncias e anotando as observações, Hahnemann desenvolveu a Homeopatia, que era também chamada de "Arte de Curar" (PUSTIGLIONE, 2018; LOPES *et al.*, 2019).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Pinguins

Os pinguins são aves marinhas únicas, devido a suas adaptações que viabilizam dispender a maior parte de suas vidas no mar, na qual passam 80% de seu tempo na água forrageando ou migrando e 20% restantes em terra durante o período reprodutivo e muda (ANCEL *et al.* 2013). Uma das características mais notáveis dos pinguins é sua capacidade de termorregulação em ambiente com temperaturas extremas. Eles são adaptados para a regulação da temperatura dentro da água, onde as condições são mais constantes do que na terra. Por essa razão, quando eles estão fora da água, podem ter problemas em lidar com o excesso de calor (EUROPEAN ASSOCIATION OF ZOOS AND AQUARIA, 1993; ELLIS; GABRIELSEN, 2002).

Há também especializações circulatórias que ajudam na termorregulação, um mecanismo de contracorrente entre as extremidades é a *retia mirabilia*, que também atua na manutenção e na troca de calor. O volume de sangue que flui para as extremidades é maior ou menor conforme a vasoconstrição e anastomoses, que desviam o sangue arterial de volta para as veias. Essas adaptações ajudam os pinguins a conservar calor (WILLIAMS, 1995; CRANFIELD, 2003; SILVA; RUOPPOLO, 2014).

Possui corpo fusiforme, os pés possuem membranas interdigitais, três dedos palmípedes e um vestigial. São aves pelágicas especializadas para o nado e mergulho, possuem ossos densos, sólidos e não pneumáticos. Membros anteriores modificados em nadadeiras, penas uniformes, sendo mais curtas nas asas. Os bicos são finos e longos compostos por placas córneas (WILLIAMS, 1995; CRANFIELD, 2003; SILVA; RUOPPOLO, 2014).

Existem dois padrões característicos de plumagem registrados para pinguins-de-Magalhães, uma associada ao adulto e outra ao indivíduo jovem. A plumagem do adulto apresenta o peito e ventre branco, dorso negro, cabeça negra com uma faixa branca circundando a garganta e estendendo-se até as laterais dos olhos, faixa preta circundando o peito e o ventre branco. Já o jovem é acinzentado na cabeça e no dorso, com uma faixa branca muito estreita que vai da garganta até os olhos, além do ventre e peito totalmente brancos (WILLIAMS, 1995).

A glândula de sal está presente nos pinguins assim como em todas as aves marinhas. Elas secretam soluções de NaCl quase puro, com pequenas quantidades de outros íons (por exemplo, K^+ , HCO_3^-) permitindo as aves ingerirem água do mar, esta glândula é semelhante a um rim e tem uma contracorrente de fornecimento de sangue que remove os íons de sódio na corrente sanguínea (GOLDSTEIN, 2002; O'MALLEY, 2005).

Entre as 18 espécies de pinguins distribuídas em mais de cinco gêneros, 05 espécies estão ameaçadas de extinção: *Megadyptes antipodes*, *Spheniscus mendiculus*, *Eudyptes sclateri*, *Spheniscus demersus* e *Eudyptes moseleyi* (IUCN, 2021).

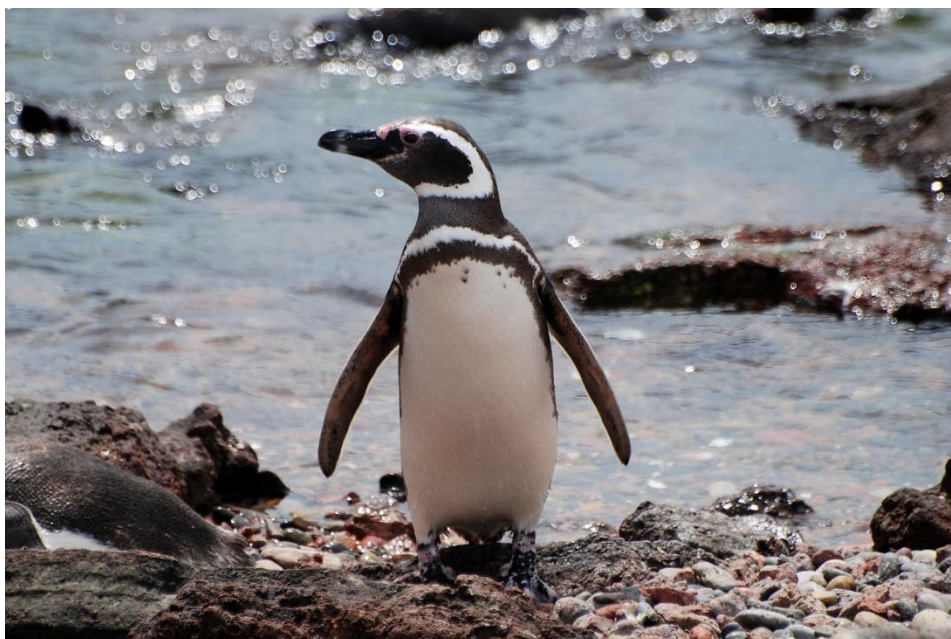
A escolha da espécie *Spheniscus magellanicus* como modelo foi devido à escassez de estudos, a prevalência dessa espécie em aquários e zoológicos e a migração dessa espécie para o Brasil.

2.2 Pinguins de Magalhães

O pinguim-de-Magalhães chega a 70 cm de altura e pesa em torno de 3,5 a 4 kg (Figura 1) (WILLIAMS, 1995), não há dimorfismo sexual, machos e fêmeas são similares, mas normalmente os machos são maiores. Esta espécie de pinguim é a mais encontrada em águas brasileiras, embora sua distribuição abranja todo litoral sul-americano. Suas colônias reprodutivas estão distribuídas ao longo da costa da

Argentina, Chile e Ilhas Falklands (Ilhas Malvinas), com uma população mundial estimada de 1.300.000 pares (Figura 2) (BOERSMA *et al.* 2013, 2015; BirdLife International, 2021).

Figura 1 - Pinguim-de-Magalhães (*Sphenicus magellanicus*)



Fonte: (FAULKNER, 2009).

Figura 2 - Colônia reprodutiva de Pinguim-de-Magalhães (*Sphenicus magellanicus*)



Fonte: (FAULKNER, 2009).

As populações de pinguim-de-Magalhães têm decrescido nas últimas décadas, principalmente na maior colônia reprodutiva, localizada em Punta Tombo na Argentina (SCHIAVINI et al., 2005; BOERSMA, 2008). Espécies classificadas como ameaçadas ou vulneráveis ocorrem principalmente na América do Sul, *Spheniscus Mendiculus*, *Spheniscus humboldti*, *Spheniscus demersus*, *Eudyptes robustus*, *Eudyptes pachyrhynchus* e *Eudyptes sclateri* ou na região Sub-antártica *Eudyptes chrysocome*, *Eudyptes moseleyi*, *Eudyptes chrysolophus* e *Eudyptes schlegeli*. Algumas dessas espécies têm populações pequenas ou um alcance geográfico limitado (TRATHAN et al., 2015)

Os impactos humanos cumulativos nos oceanos são consideráveis, existem várias razões para ocorrer essa diminuição populacional como por exemplo, a destruição de habitat e o turismo desordenado, a redução da disponibilidade de alimentos devido à pesca predatória, a poluição marinha e os derramamentos de óleo ao longo da costa, a captura incidental na pesca, alterações climáticas, doenças, entre outras ameaças (BOERSMA; PARRISH, 1999; PETRY; FONSECA, 2002; SCHIAVINI et al., 2005; MÄDER et al., 2010; BOERSMA et al., 2013; TRATHAN et al., 2015).

A variabilidade ambiental afeta os processos populacionais entre os pinguins, geralmente por meio da distribuição ou disponibilidade de alimento (TRATHAN; FORCADA; MURPHY, 2007). Para se adequar as novas condições ambientais os pinguins, a curto prazo, modificam os parâmetros de reprodução e a longo prazo, alteram sua distribuição (BOERSMA; STOKES, 1995; FORCADA; TRATHAN, 2009).

Seu período migratório anual inicia-se após o término da troca de penas, logo após o período reprodutivo (BOERSMA et al., 2013). Após o período reprodutivo, que ocorre entre os meses de setembro e março, exemplares adultos e jovens deixam as colônias e iniciam uma migração acompanhando as correntes marítimas e o deslocamento dos cardumes de anchoíta (*Engraulis anchoita*) que compõem até 72% de sua dieta, composta também de cefalópodes e crustáceos (WILLIAMS, 1995; SILVA; RUOPPOLO, 2014).

Durante a migração os pinguins ficam expostos a situações adversas, como desafios ambientais e interações antrópicas, muitas vezes acabam encalhando na costa brasileira. Isso ocorre principalmente com os juvenis, que estão em sua primeira migração. Os animais encalhados são encaminhados a centros de reabilitação com

quadro clínico frequente de desidratação, hipoglicemia e hipotermia (RIBEIRO, 2017; HURTADO *et al.*, 2018).

No contexto da reabilitação de pinguins arribados nas praias, a análise de parâmetros hematológicos é indispensável ao se avaliar o estado de saúde individual e optar por devolver ou não um animal à vida livre (MAYORGA *et al.*, 2016).

Os pinguins são animais gregários tanto no mar como na terra. Em período de mudas os juvenis e filhotes não são tolerados em grupos de adultos. Quando os filhotes perdem as plumas, aos 70 dias, saem do ninho e vão para o mar. Em sua maioria, após a migração, voltam para se reproduzir no mesmo local onde nasceram. Pouco é conhecido sobre a estrutura social desses animais no mar (WILLIAMS, 1995; SILVA; RUOPPOLO, 2014).

A substituição anual das penas é um processo fisiológico que demanda grande gasto de energia. Na maioria das espécies de aves a troca de penas é parcial, enquanto nos pinguins ela é feita de uma só vez. Este fenômeno é conhecido como muda catastrófica e tem duração de 2-3 semanas. O processo inicia-se com a hiperfagia, levando ao aumento da massa corpórea de 40 a 70% e aumento de volume das nadadeiras e é acompanhado de um período de jejum. (PENNEY, 1967). A muda das penas é desencadeada pela melatonina associada ao fotoperíodo (COCKREM, 1991; BARCELOS *et al.*, 2015).

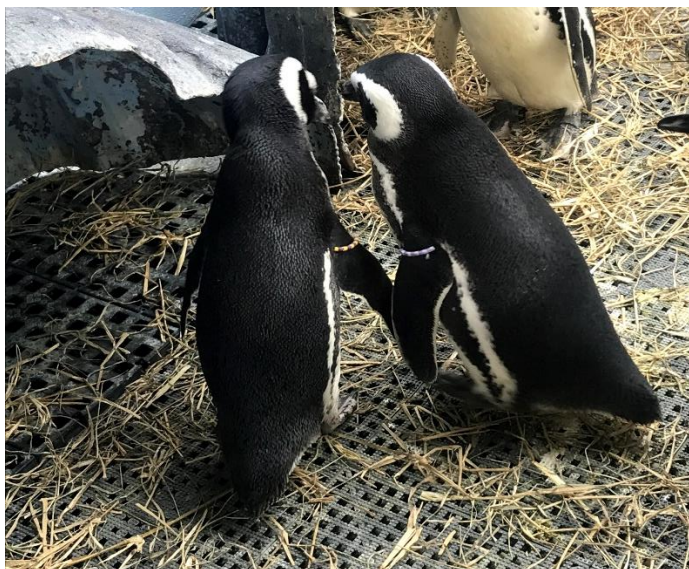
É provável que o início das alterações fisiológicas para a reprodução seja dado quando os pinguins ainda estão em migração. Esta reativação gonadal é provavelmente estimulada pelo aumento das horas de luz no dia, que por sua vez induz os animais a retornarem a suas colônias reprodutivas (WILLIAMS, 1995).

2.2.1 Período Reprodutivo

Em espécies de aves reprodutivas sazonalmente, o fator mais importante que influencia a produção de gonadotrofina e consequente atividade ovariana e reprodutiva é o fotoperíodo. Fatores não fóticos, como temperatura do ar, disponibilidade de alimentos, condição corporal e presença de um companheiro também são importantes para as espécies marinhas como o pinguim, temperaturas médias da superfície do mar estão associadas ao momento do início da reprodução e sucesso reprodutivo (WILLIAMS, 2012).

O comportamento sexual inclui 4 etapas: “Duelo de bicos” ou “tapa de bicos” na qual dois pinguins batem os bicos um ao outro, entre machos e fêmeas representa uma parte do comportamento de corte, entretanto pode ocorrer apenas entre machos em uma briga; “Danças em círculos”, um comportamento de corte onde o macho anda em círculos ao redor da fêmea com o pescoço contraído antes de conduzi-la para o ninho ou antes de bater as nadadeiras; “Bater as nadadeiras”, quando as nadadeiras vibram vigorosamente contra o outro pinguim, ocorre apenas entre casais de pinguins e entre machos tentando cortejar as fêmeas; “Arrumar as penas mutuamente”, ocorre principalmente entre casais, embora ocorra também entre outros pinguins mesmo sem vínculo familiar (Figura 3) (EUROPEAN ASSOCIATION OF ZOOS AND AQUARIA, 1993; RIBEIRO, 2017).

Figura 3 - Casal de pinguim-de-Magalhães com comportamento sexual: percebe-se os pinguins batendo a aleta e o bico



Fonte: (NARITA, 2020).

O período reprodutivo dos pinguins pode ser dividido em várias fases, entre elas: formação das colônias reprodutivas, comportamento comumente utilizado por diversas espécies de aves marinhas e pela maioria das espécies de pinguins, com exceção do *Megadyptes antipodes*, (WILLIAMS, 1995; RIBEIRO, 2017) escolha e fidelidade dos parceiros, postura e incubação, cuidado parenteral e emancipação dos filhotes (FOWLER et al, 1994; WILLIAMS, 1995; BOERSMA et al., 2013). A cópula ocorre em terra (Figura 4), os pinguins tendem a permanecer no ninho por alguns dias,

ou até várias semanas antes da postura dos ovos. As cloacas do macho e da fêmea aumentam de volume antes da postura. A cópula inicia-se quando a fêmea assume a posição de decúbito esternal, o macho sobe em suas costas e movimenta as aletas, até o contato cloacal. As fêmeas podem armazenar espermatozoides durante pelo menos quatro dias. Os pinguins são aparentemente monogâmicos. De acordo com o êxito reprodutivo do casal os indivíduos podem ou não manter seus pares ao longo dos anos (EUROPEAN ASSOCIATION OF ZOOS AND AQUARIA, 1993; WILLIAMS, 1995; NELSON; BAIRD, 2002; BOERSMA *et al.*, 2013; SILVA; RUOPPOLO, 2014).

Figura 4 - Cópula de casal de pinguim de Magalhães



Fonte: (NARITA, 2020).

Os indivíduos de ambos os sexos compartilham a incubação dos ovos. A incubação do pinguim-de-Magalhães tem duração de 39 a 42 dias, normalmente a mudança no turno da incubação é caracterizada pelos *displays* mútuos e vocalizações (Figura 5). O cuidado é biparental com duração de 8 a 16 semanas, a alimentação dos filhotes é feita pela regurgitação do conteúdo estomacal dos pais. Quando os filhotes atingem a estatura de adulto e adquirem a plumagem de juvenil são deixados sozinhos. Guiados pela fome, após observarem a maioria dos pinguins indo em direção ao mar, os filhotes entram no mar pela primeira vez, em busca de alimentos (Figura 6) (WILLIAMS, 1995; NELSON; BAIRD, 2002; SILVA; RUOPPOLO, 2014).

Figura 5 – Casais de pinguins de Magalhães incubando os ovos



Fonte: (NARITA, 2020).

Figura 6 - Evolução do nascimento a juvenil de pinguim-de-Magalhães



Fonte: (NARITA, 2017).

Estudos para avaliar a taxa e duração da formação da gema já foram realizados em várias espécies de aves, incluindo o pinguim-de-crista-de-Fiordland (*Eudyptes pachyrhynchus*), o pinguim-de-nadadeiras-brancas (*Eudyptula minor albosignata*; Grau, 1984) e o pinguim-de-Adélia (*Pygoscelis adeliae*; Astheimer e Grau, 1985). Este estudo de O'BRIEN *et al.* com pinguins mostrou que o início da formação da gema do primeiro ovo (ovo A) e a formação do segundo ovo (ovo B), inicia vários dias antes e que o intervalo de rápida deposição de gema dura de 14 a 16 dias. O que se presume que a formação de gema de ovo ocorrem quase inteiramente enquanto as fêmeas do

pinguim Adélia estão migrando para colônias. Em pássaros, foi descrito que o sangue é considerado biomarcador de produção de gema, inclui os precursores da gema de ovo, vitelogenina (medida como vitelogênica zinco) e lipoproteínas de baixa densidade. Um ou ambos precursores de gema foram examinados no pinguim imperador (*Aptenodytes forsteri*), macaroni (*Eudyptes chrysolophus*) e rockhopper (*Eudyptes chrysocome*), porém as fêmeas foram apenas amostradas após a chegada à terra para reprodução quando as concentrações de precursores já estavam elevadas, ou seja, a duração da vitelogênese e a dinâmica de acompanhamento da produção de gema continua a ser determinado para essas espécies e para a maioria dos pinguins da ordem Sphenisciformes (O'BRIEN *et al.*, 2015).

Para Boersma e Rebstock (2014) o aumento da frequência de eventos extremos, como tempestades, seca, extremos de temperatura afetam muitas espécies. Tempestades intensas podem causar mortalidade de adultos e filhotes de aves marinhas suficientes para afetar a estação reprodutiva e tamanho populacional das colônias.

No estudo realizado por Pozzi *et al* (2015) foi observado que nas últimas décadas, várias mudanças populacionais e distributivas ocorreram nas colônias dos pinguins-de-Magalhães na costa da Patagônia, com algumas colônias em declínio e outras recém-estabelecidas ou aumentando. Todas as colônias localizadas ao norte (que foram estabelecidas durante as últimas décadas), aumentaram em altas taxas, comparando com as menores colônias recentemente estabelecidas. No centro-sul de Chubut, onde as colônias são as mais antigas, as maiores agregações reprodutivas diminuíram, mas as colônias menores permaneceram relativamente estáveis. O sucesso reprodutivo foi maior nas colônias do norte, provavelmente mediado por condições oceanográficas favoráveis.

Os modelos climáticos preveem que os extremos de precipitação aumentem independentemente dos padrões de circulação atmosférica pois quanto mais quente o ar, mais umidade é retida. Prevê-se que as temperaturas do ar aumentem 1,5 a 2,5°C durante o próximo século. Para a maioria das aves, os ninhos ajudam a proteger os ovos e filhotes contra tempestades bloqueando o vento e a precipitação e retendo o calor, os ninhos também protegem os ovos e filhotes do superaquecimento sob o sol (BOERSMA; REBSTOCK, 2014).

O aumento da frequência de calor extremo também reduz o sucesso reprodutivo, causa mortalidade em aves adultas e aumenta o estresse por falta de

água. Além da mortalidade direta por hipertermia e hipotermia, o clima extremo aumenta a fome e a predação em filhotes. Pinguins adultos sexualmente maduros também podem pular anos reprodutivos se as condições de reprodução não forem favoráveis (CERCHIARA *et al.*, 2017).

No estudo realizado por Palacios (2018) foi mensurado um conjunto de índices imunológicos e de estado de saúde para avaliar os efeitos do ecoturismo sobre os pinguins-de-Magalhães. O estudo foi realizado em duas colônias reprodutivas que diferiam na intensidade do turismo e na população: Punta Tombo (maior intensidade de turismo, diminuição da população) e San Lorenzo (menor intensidade de turismo, crescimento da população). Dentro de cada colônia foi comparado indivíduos de uma área que foi exposta a turistas e uma área de controle onde o turismo foi excluído. Pinguins adultos expostos ao turismo em Punta Tombo apresentaram resultados indicativos de estresse crônico (razões de heterófilos por linfócitos mais altas) e infecção parasitária (heterófilos elevados e contagens de eosinófilos). Filhotes desta mesma colônia também apresentaram alterações fisiológicas indicativas de mau estado imunológico e de saúde geral: baixa imunidade inata humoral, baixo hematócrito, e níveis de glicose e respostas inflamatórias mais elevadas provavelmente devido ao aumento da prevalência de pulgas. Em contraste, os indivíduos de uma população crescente expostos a níveis mais recentes e mais baixos de turismo não mostraram nenhum efeito.

2.3 Homeopatia

A homeopatia foi criada e desenvolvida pelo médico alemão Christian Frederick Samuel Hahnemann, nascido em Meissen, Alemanha, em 1755, a partir de experimentações observacionais protocolares minuciosas no homem são (RAYA *et al.*, 2021).

Hahnemann clinicou durante um tempo, mas mostrou-se insatisfeito, com os resultados obtidos através da medicina tradicional, optando por ganhar a vida traduzindo livros médicos. Em 1790, durante a tradução da *Matéria Médica* de William Cullen (1710-1790), ficou intrigado com as explicações dadas por este para os efeitos terapêuticos da *China officinallis* (quina). Decidiu, então, experimentar a quina, observando em si mesmo manifestações semelhantes às apresentadas por pacientes

com malária. Concluiu que, a quina era utilizada no tratamento da malária porque produzia sintomas semelhantes em pessoas saudáveis. Animado por esse primeiro resultado, utilizou também beladona, mercúrio e outros compostos, obtendo resultados similares. Hahnemann concebeu uma nova forma de tratamento, embasada na cura pelos semelhantes (CORRÊA, 2006).

O princípio da semelhança homeopática, *Similia similibus curentur*, afirma que os semelhantes se curam pelos semelhantes, já havia sido consolidado por Hipócrates, no século IV a.C., na qual as doenças poderiam ser combatidas pelo emprego de substâncias promotoras de sintomatologias semelhantes às mesmas, ao declarar “... a doença é produzida pelos semelhantes e pelos semelhantes que a produziram... o paciente retorna da doença à saúde” (PUSTIGLIONE, 2018; RAYA *et al.*, 2021).

No Brasil, a homeopatia foi introduzida por Benoit Mure, em 1840, tornando-se uma nova opção de tratamento. Em 1845 foi criada a primeira escola de formação homeopática, a Escola Homeopática do Brasil, sob a direção de João Vicente Martins, a qual, em 1847, foi substituída pela Academia Médico-Homeopática do Brasil (CORRÊA, 2006; COSTA, 2009).

Em 1979, foi fundada a Associação Médica Homeopática Brasileira (AMHB); em 1980, a homeopatia foi reconhecida como especialidade médica pelo Conselho Federal de Medicina (COSTA, 2009).

O Brasil é um dos países com maior número de médicos homeopatas do mundo e estima-se que aproximadamente 17 milhões de brasileiros já tiveram contato ou foram tratados pela medicina homeopática. Corresponde ao país com maior contribuição de trabalhos científicos na área da pesquisa básica, publicados entre 2004 e 2013, seguido pela Índia, França e Alemanha (CLAUSEN *et al.*, 2014).

Os benefícios do tratamento homeopático em animais foram estabelecidos, a partir de 1940, pelo médico Dr. Nilo Cairo, na obra Guia Prático de Veterinária Homeopática. Cláudio Martins Real, na década de 50, iniciou seus estudos na França e se tornou o primeiro veterinário homeopata brasileiro pela AMVHB. Em 1995, a homeopatia foi a primeira especialidade médica veterinária reconhecida pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), com concessão de títulos de especialista a partir de 2000 (RAYA *et al.*, 2021).

A homeopatia trata o indivíduo em sua totalidade sintomática, se baseia nos pilares fundamentais da experimentação no homem são, lei da semelhança, remédio

único e doses infinitesimais, a fim de estimular energeticamente o sistema de cura natural do corpo e elevar sua imunidade, justamente por impulsionar a força energética orgânica no combate à enfermidade e não agir diretamente sobre um patógeno específico instaurador da doença (PUSTIGLIONE, 2018; RAYA *et al.*, 2021).

A substância medicamentosa homeopática pode ser de origem animal, vegetal ou mineral. O medicamento homeopático é capaz de causar no homem sadio sintomas patogenéticos específicos, e promover a cura, por sua semelhança à totalidade sintomática, psíquica e orgânica (LARKIN, 2017).

Após apresentar amplo material atualizado e rigorosamente analisado, sobre pesquisas básicas, ensaios clínicos e revisões da literatura, o dossiê indiano conclui que o tratamento com medicamentos homeopáticos traz como vantagens: ser seguro, eficaz e baseado em substâncias naturais, por utilizar substâncias simples em micro-doses, os medicamentos não estão associados com qualquer efeito tóxico e podem ser utilizado com segurança em mulheres grávidas, lactantes, lactentes, crianças e idosos; nas infecções, pelo fato dos medicamentos homeopáticos não agirem diretamente sobre os microrganismos e sim sobre o sistema imune para combater o processo da doença, não se conhece resistência microbiana a homeopáticos; o modo de administração de medicamentos homeopáticos é simples não sendo utilizados métodos invasivos, e além disso, os medicamentos são altamente palatáveis, aumentando assim sua aceitação; a falta de diagnóstico confirmado não representa um obstáculo para iniciar o tratamento com medicamentos homeopáticos; a relação custo-benefício do tratamento homeopático é comparativamente melhor do que a de outros sistemas terapêuticos (PUSTIGLIONE, 2017).

A homeopatia aplicada à veterinária tem apresentado excelentes resultados práticos, contrariando alguns conceitos, como por exemplo, o de concentração terapêutica mínima e apresentando vantagens sobre a medicina convencional. A prática homeopática além de contemplar o bem-estar animal pode ser considerada uma alternativa aos medicamentos alopáticos. A homeopatia tem outras vantagens, como custo baixo, fácil administração, além de não causar efeitos colaterais, reações adversas e acúmulo de resíduos provenientes de doses elevadas e/ou administração crônica de medicamentos. Por ser administrada por via oral (alimento ou água), o tratamento homeopático não requer contenção física dos animais, minimizando o estresse do tratamento (COSTA, 2009).

2.3.1 Medicamentos

Hahnemann notou maior sucesso no uso de doses imponderáveis, as altas diluições das substâncias naturais, seguidas de sucussões (agitações), conhecida como dinamização, proporcionando a potencialização energética e curativa, com resoluções mais rápidas, brandas e duradouras, bem como, surgimento de sintomas diferenciados nas experimentações. Grandes doses, em baixa diluição, maximizavam a ocorrência de agravações sintomatológicas e de intoxicações nas experimentações, então desenvolveu a escala de diluição centesimal Hahnemanniana (cH), 1 parte de soluto para 99 partes de solvente. Portanto a dinamização é a liberação de energia dinâmica de substâncias medicamentosas por meio de sucussões ou de trituração, isto é, por meio de vibração molecular (PUSTIGLIONE, 2018).

Pedalino (2006) relata que se parte do princípio que diluições diferentes atuam em diferentes locais. Diluições altas (acima de D30), atuariam principalmente no sistema nervoso, enquanto que diluições mais baixas (inferior a D30) atuariam sobre os tecidos orgânicos de um modo geral. Os princípios biofísicos decorrentes das diferentes potências poderiam assegurar diferentes efeitos. Potências baixas teriam efeitos sobre "estruturas", consistindo em uma "terapia de substituição". Potências médias teriam efeito de regulação sobre as cadeias funcionais e bioquímicas. Potências altas teriam efeito de "informação" sobre o sistema em questão.

O organismo é um corpo energético e dinâmico, considerando o processo de instalação da doença natural igualmente dinâmico e imaterial, os meios de cura deveriam ser igualmente destituídos de matéria. Optou-se pelo uso de medicamentos em doses infinitesimais, altamente diluídos, como forma informativa energética às células (RAYA *et al.*, 2021).

2.3.2 *Avena sativa*

Avena sativa possui uma grande variedade de constituintes, entre eles carboidratos, proteínas, lipídios, alcalóides, avenantramidas, tocoferóis, flavonóides, saponinas e esteróis. A ação é exercida principalmente sobre o sistema nervoso central, em que são observados os sinais de fadiga física e intelectual. Possuem

atividades farmacológicas variadas, como a redução do colesterol no sangue e açúcar no sangue, imunomodulador, anticâncer, antioxidante, antiaterogênico, anti-inflamatório tópico, útil no controle de asma infantil e peso corporal (SINGH, 2013).

O trabalho publicado por Soto *et al*, em 2008, avaliou a utilização da *Avena sativa* no sêmen diluído de reprodutores suínos com o objetivo de melhorar a atividade metabólica das células espermáticas, foi avaliada a motilidade, concentração e vigor espermático. Foi detectada diferença estatística nas 48 e 96 horas pós colheita do sêmen ($p < 0.05$) com maior motilidade espermática no grupo tratado. Em relação ao vigor espermático foi detectada diferença estatística nas 48 e 72 horas pós colheita do sêmen ($p < 0.05$) com maior vigor no grupo tratado. O número de retornos ao cio maior no grupo controle (20.00%) em comparação ao tratado (16,66%) sem diferença estatisticamente significativa. No grupo controle nasceram 464 leitões enquanto no grupo tratado, 516 leitões.

Figura 7 –Fotografia da planta *Avena sativa*



Fonte: (MARQUES, 2004).

2.3.3 *Echinacea angustifolia*

A *Echinacea angustifolia* tem sido usada por muitos anos na medicina tradicional. Os efeitos desta planta incluem o aumento da atividade leucocitária, estimulação da fagocitose, produção de macrófagos e aumento celular dos linfócitos T e atividade das células B. A tintura-mãe, preparada a partir da planta inteira, contém:

óleo essencial, compostos fenólicos derivados do ácido caféico, entre os quais a cinarina e o equinacosídeo, substância fracamente antibiótica que tem também atividades corticomimética e antiviral, polissacarídeos com atividade antiinflamatória e imunoestimulante, flavonóides e compostos alifáticos insaturados (PEDALINO, 2006).

Em um experimento com recém-nascidos de suínos, foi observado o uso de *Echinacea angustifolia* como efeito imunoestimulante, promovendo crescimento e fornecendo um grau de proteção inespecífica influenciando significativamente o aumento de ganho médio diário de massa corporal dos recém-nascidos até o desmame (OLIVER, 2006).

Pedalino *et al.* (2006) publicaram um trabalho procurando enfocar o papel do macrófago como indicador da evolução da peritonite experimental, dado o papel central desta célula nos processos de modulação imunológica frente ao estresse e a situações de desafio do organismo contra agentes externos. Foi observado os efeitos de duas plantas (*Atropa belladonna* e *Echinacea angustifolia*) contidas num mesmo medicamento, em acordes de potência, e os comparou aos do controle positivo e negativo. Nas condições experimentais utilizadas no trabalho, tanto *Atropa belladonna* quanto *Echinacea angustifolia* possuem efeito modulador sobre a resposta inflamatória da peritonite provocada por LPS em camundongos. As plantas estudadas modificaram a migração celular para o foco inflamatório no sentido de agudizar o processo: aumentando a migração celular de polimorfonucleares e reduzindo a migração de linfócitos e macrófagos. Todas as preparações de *Echinacea angustifolia* e *Atropa belladonna* estudadas apresentaram redução na porcentagem de leucócitos degenerados presentes no sítio inflamatório, sugerindo um efeito menos nocivo sobre estas células.

Figura 8 – Fotografia da planta *Echinacea angustifolia*



Fonte: (Oficina das ervas, 2020).

2.4 Hemograma

Para a maioria das espécies de aves, é considerado seguro coletar até o 10% do volume de sangue, o que equivale aproximadamente ao 1% do peso corporal (CAMPBELL; ELLIS, 2007; HURTADO *et al.*, 2018).

O anticoagulante mais recomendado para análise hematológica em aves é o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), por ser o que menos provoca alterações na amostra (CAPITELLI; CROSTA, 2013). No entanto, em algumas espécies da família Corvidae e cracídeos, bem como em avestruzes o EDTA provoca hemólise. Nestes casos deve-se usar heparina lítica, mesmo apresentando a desvantagem de formação de agregados celulares (SAMOUR *et al.*, 2011).

Estudo realizado com amostra sanguíneas de pinguins-de-Galápagos (*Spheniscus mendiculus*) não observou diferença, inclusive microscópica, entre a utilização de heparina ou sangue com EDTA (TRAVIS *et al.*, 2006). Entretanto, Moraes *et al.* (2019) demonstraram que as amostras de heparina foram superiores as amostras de soro para realização de exames bioquímicos em pinguins-de-Magalhães resgatados para reabilitação, resultando em amostras sem formação de coágulo de fibrina, maior volume disponível, e menos hemólise.

Além disso, a vantagem da utilização da heparina nos tubos minimiza o volume da coleta de sangue, otimiza recursos materiais, permitindo o mesmo tubo coletor para hematologia e bioquímico (MORAIS *et al.*, 2019).

O sangue venoso normalmente fornece uma melhor amostra para os estudos hematológicos, enquanto, sangue coletado de capilares, em geral, resulta em uma distribuição anormal das células e podem ser encontradas outras substâncias que normalmente não estão no sangue venoso. Os esfregaços sanguíneos podem ser feitos utilizando-se várias técnicas, porém o método padrão das duas lâminas, muito utilizado na preparação de esfregaços sanguíneos de mamíferos, também pode ser utilizado para realizar esfregaços sanguíneos de aves (CAMPBELL, 2015).

Uma das maiores dificuldades de interpretação do hemograma em aves é o estabelecimento dos valores de referência. Estes valores apresentam grandes variações em função da espécie, da população, fatores genéticos, do território, habitat, sexo, idade, estado fisiológico, estação entre outros. Os valores também podem variar dependendo do laboratório onde são processadas as amostras, da técnica empregada, bem como do procedimento de colheita (SAMOUR *et al.*, 2011).

A partir dos valores de hemácia, hematócrito e hemoglobina são calculados os índices eritrocitários, que fornecem informações complementares da linhagem eritrocitária. Assim, o volume corpuscular médio (VCM) representa o tamanho dos eritrócitos, a hemoglobina corpuscular média (CHM) e a concentração média de hemoglobina corpuscular (CHCM) expressam a quantidade de hemoglobina por eritrócito. Os cálculos destes índices estão apresentados a seguir:

- $VCM \text{ (fL)} = (Htc \times 10) / RBC$
- $HCM \text{ (pg)} = (Hemoglobina \times 10) / RBC$
- $CHCM \text{ (\%)} = (Hemoglobina \times 100) / PCV$

Os principais tipos celulares encontrados no sangue das aves são: eritrócitos, trombócitos e leucócitos. Os trombócitos e os leucócitos são constituídos por granulócitos (heterófilos, eosinófilos e basófilos), linfócitos e monócitos. As aves apresentam os eritrócitos e os trombócitos nucleados, fato que pode interferir nas contagens automatizadas. O principal leucócito nas aves é o heterófilo, equivalente ao neutrófilo dos mamíferos (CAPITELLI; CROSTA, 2013).

SAMOUR *et al.* (2011) comprovou variações nos parâmetros hematológicos em função da idade em avestruzes, além de detectar diferenças com valores

estabelecidos para espécie, baseados em outras populações. Neste estudo o heterófilo foi o leucócito predominante em todas as idades, seguido do linfócito.

Em pinguins é possível observar diferenças celulares entre machos e fêmeas de pinguins-de-Magalhães, as diferenças encontradas nas contagens de leucócitos sugerem que pode haver exposição diferencial ou na resposta a fatores como estresse ou patógenos entre machos e fêmeas de pinguins no período reprodutivo (MORENO *et al.*, 2002; GALLO *et al.*, 2019).

2.5 Morfologia dos diferentes tipos celulares em aves

2.5.1 Eritrócitos

Os eritrócitos maduros das aves normalmente são maiores que os dos mamíferos, porém menores que dos répteis, outra diferença significativa é que os eritrócitos das aves são nucleados, sendo que o tamanho pode variar dependendo da espécie (CAMPBELL, 2015). Nos eritrócitos das aves os compostos fosfatados que influenciam a afinidade da hemoglobina com o oxigênio são diferentes dos de mamíferos, de forma que tecidos das aves podem extrair oxigênio da hemoglobina mais facilmente (THRALL, 2015).

A contagem de eritrócitos e hematócrito em aves aumenta com a idade, e maiores valores são verificados em machos. A produção de eritropoietina aviária pelos rins aumenta em resposta a estímulos como hemorragia e hemólise, aumentando a produção de eritrócitos na medula óssea (THRALL, 2015).

O tempo de vida dos eritrócitos aviários é mais curto que o dos mamíferos, portanto a eritropoiese é mais intensa e é controlada pelos níveis de eritropoetina (diferente da dos mamíferos) produzida no rim, sob estímulos de oxigênio sanguíneo e níveis de estrógenos e andrógenos. Sendo assim, no esfregaço, é possível observar diferentes estágios de maturação dos eritrócitos, as células mais jovens são mais esféricas, com o citoplasma mais basófilo, núcleo arredondado e com cromatina pouco compactada. A medida que amadurecem, vão tornando-se mais elípticos, a densidade nuclear fica maior e o citoplasma fica mais vermelho (CAPITELLI; CROSTA, 2013).

Na maioria das aves, o formato do eritrócito é relativamente constante. Em relação aos eritrócitos hipocrômicos, estes são de forma mais pálida do que o normal quando comparado aos eritrócitos maduros, tendo uma área de palidez citoplasmática maior do que a metade do volume citoplasmático total. A hipocromia significativa, se correlacionará com um menor valor de concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) (THRALL, 2015).

2.5.2 Leucócitos

Os leucócitos presentes no sangue das aves são linfócitos, monócitos e granulócitos, estes últimos classificados como heterófilos, eosinófilos e basófilos.

Pertencem ao sistema imunológico celular e pode ser indicativo de infecções crônicas e agudas (PALACIOS *et al.*, 2008). Entretanto, o leucograma pode variar muito entre os animais sadios da mesma espécie. Como se estressam ao serem manipuladas, o processo de coleta do sangue pode resultar em leucocitose fisiológica, devido ao aumento da quantidade de heterófilos e linfócitos no sangue (SILVA FILHO; RUOPPOLO, 2014; THRALL, 2015; MAYORGA *et al.*, 2016).

2.5.3 Heterófilos

Os heterófilos são as principais células fagocíticas envolvidas na resposta inflamatória e estão envolvidos no ataque a bactérias por meio de quimiotaxia, opsonização, fagocitose e lise (CAPITELLI; CROSTA, 2013). Os heterófilos das aves correspondem aos neutrófilos dos mamíferos (MITCHELL; JOHNS, 2008).

Os heterófilos são os leucócitos mais abundantes do sangue periférico da maioria das espécies de aves. Todavia, algumas espécies de aves são linfocíticas, ou seja, apresentam os linfócitos como células predominantes no esfregaço sanguíneo (FUDGE, 2000).

Campbell, descreveu em 2015, que o núcleo dos heterófilos maduros é lobulado, com cromatina agregada e grosseira que se cora de roxo. Os heterófilos de aparência anormal no esfregaço sanguíneo incluem tanto os imaturos quanto os tóxicos. Os heterófilos imaturos apresentam basofilia citoplasmática aumentada,

núcleo não segmentado e grânulos citoplasmáticos imaturos se comparados aos heterófilos normais e já maduros. Os imaturos mais encontrados no sangue são os mielócitos e os metamielócitos.

Os mielócitos são maiores do que os heterófilos maduros e possuem citoplasma mais azulado, assim como grânulos secundários em forma de bastonete, que ocupam menos da metade do volume citoplasmático, além do núcleo não segmentado e arredondado. Já os metamielócitos, aparentam os mielócitos, com a exceção do núcleo ser recuado e de os grânulos em forma de bastonete ocuparem mais da metade do volume citoplasmático (CAMPBELL, 2015).

Quando ocorrem distúrbios sistêmicos graves, os heterófilos das aves se comportam similares aos neutrófilos dos mamíferos. As alterações tóxicas são subjetivamente quantificadas quanto ao número de células tóxicas e quanto à gravidade da toxicidade, assim como acontece na hematologia de mamíferos (THRALL, 2015).

2.5.4 Linfócitos

A morfologia dos linfócitos das aves é semelhante à dos mamíferos. São células redondas, de margem às vezes irregular, com o núcleo posicionado centralmente ou ligeiramente excêntrico. A cromatina no núcleo é densamente condensada e a relação núcleo/citoplasma é elevada, com exceção dos linfócitos maiores. (MITCHELL; JOHNS, 2008).

A proporção heterófilo: linfócito pode ser utilizada como índice para avaliação do estresse em aves, devido a elevação crônica de glicocorticoides (GROSS; SIEGEL, 1983). Entretanto, apresenta influência em resposta ao aumento do esforço durante a reprodução e ainda na exposição de patógenos (RENISON *et al.*, 2006; DAVIS *et al.*, 2008).

A função dos linfócitos é a mesma que nos mamíferos, sendo os linfócitos B dependentes da Bursa de Fabrício e responsáveis pela imunidade humoral, enquanto os linfócitos T, dependentes do timo, atuam na imunidade celular (MITCHELL; JOHNS, 2008).

2.5.5 Eosinófilos

Existem variações dos eosinófilos segundo a espécie e é recomendável a comparação com outras formas celulares do esfregaço para facilitar a distinção (MITCHELL; JOHNS, 2008).

A função exata dos eosinófilos das aves ainda não está clara, mas a composição dos seus grânulos é semelhante à dos mamíferos. Alguns estudos revelam associação entre o incremento dos eosinófilos e infecções parasitárias em algumas espécies, embora em geral, os antígenos parasitários não induzem eosinofilia nas aves. Outros estudos indicam eosinofilia em situações inflamatórias. É possível que os eosinófilos das aves tenham papel nas respostas de hipersensibilidade tardia, mas não são observados em respostas de hipersensibilidade aguda ou de anafilaxia (MITCHELL; JOHNS, 2008).

2.5.6 Basófilos

Os basófilos são facilmente distinguíveis pela coloração azul intensa dos seus grânulos, o núcleo pode apresentar-se escondido pelos grânulos, não é lobulado variando de redondo a oval (MITCHELL; JOHNS, 2008; CAPITELLI; CROSTA, 2013).

A função dos basófilos é pouco conhecida, podem estar envolvidos nas fases iniciais da inflamação aguda, mas nem sempre esta situação vem acompanhada de basofilia. Os seus grânulos contêm histamina, assim como nos mamíferos e suspeita-se que tenham um papel nas reações de hipersensibilidade tipo IV, do mesmo modo que os basófilos e mastócitos de mamíferos (MITCHELL; JOHNS, 2008).

Descrita por vários autores, o aumento do número de basófilos encontrados em galinhas poedeiras alojadas em aviários está diretamente relacionado ao estresse em aves (BEDANOVA *et al.*, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2017; KRIVANKOVA *et al.*, 2020).

2.5.7 Monócitos

Os monócitos das aves são similares aos dos mamíferos. São maiores que os leucócitos, com citoplasma mais abundante e basófilo, além da cromatina menos

condensada. A sua forma é arredondada ou amorfa, com o núcleo redondo, oval ou lobulado (MITCHELL; JOHNS, 2008).

Os monócitos são os maiores leucócitos encontrados no sangue periférico. Apresentam citoplasma delicadamente granular, abundante e azul-acinzentado, com núcleo púrpura (THRALL, 2004).

A monocitose induzida por estresse em aves é mais lenta e menos proeminente que nos mamíferos, fazendo que o estresse não seja levado em consideração na interpretação da contagem de monócitos (CIRULE *et al.*, 2012).

A monocitose geralmente está associada a doenças crônicas como em lesões granulomatosas micóticas e bacterianas, necrose tecidual inespecífica, aspergilose, dermatite bacteriana crônica, salmonelose, tuberculose, clamidiose ativa ou crônica e por deficiência de zinco na dieta (SCHIMIDT, 2007; MITCHELL; JOHNS, 2008). E, também é observada nos distúrbios agudos em até 12 horas após a instalação da inflamação. A monocitopenia não apresenta importância clínica. (SCHIMIDT *et al.*, 2007).

3 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo avaliar os parâmetros laboratoriais dos pinguins-de-Magalhães através de coleta de sangue, interpretação do hemograma e leucograma antes e durante período de reprodução, incluindo o comparativo entre machos e fêmeas, e determinar a ação dos medicamentos homeopáticos *Echinacea angustifolia* 6cH e *Avena sativa* 6 cH na resposta hematológica no período de reprodução dos casais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos descritos neste trabalho foram autorizados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Santo Amaro, sendo o projeto protocolado sob o N.22.1/2020 (Anexo A) e autorizado pelo SISBIO (Autorização para Atividades com Finalidade Científica do Ministério do Meio Ambiente) sob o N. 75384 (Anexo B).

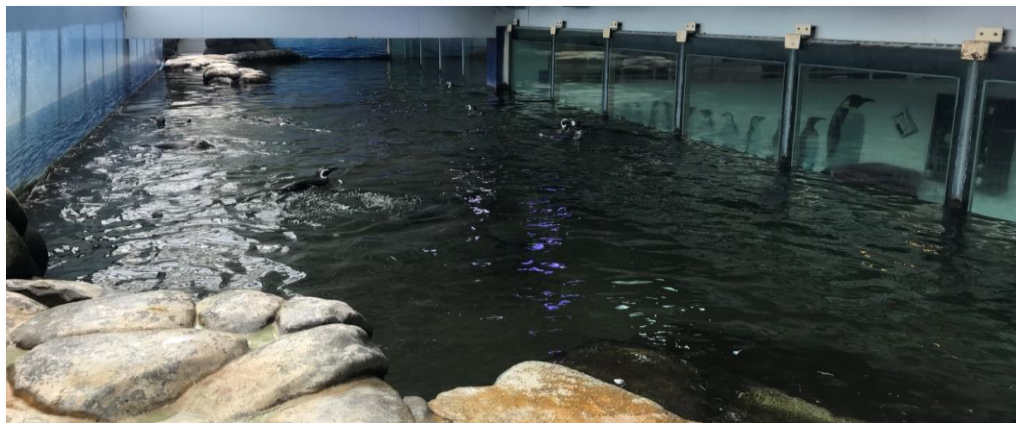
4.1 Animais

O projeto foi realizado com 20 (vinte) exemplares de pinguins-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*), adultos, 10 (dez) fêmeas e 10 (dez) machos, mantidos no pinguinário da Sabina – Escola Parque do Conhecimento, localizado na cidade de Santo André, SP, Brasil. A escolha da espécie como modelo foi devido à escassez de estudos, a prevalência dessa espécie em aquários e zoológicos, bem como o número conveniente de indivíduos disponível na Instituição. Os critérios de inclusão na pesquisa são os casais de pinguins adultos pareados.

4.2 Procedimentos

Os pinguins foram mantidos em um pinguinário de 33 metros quadrados de área seca e 81 metros quadrados de piscina com 110 mil litros de água salgada com limite de até 28 animais, com acesso livre a piscina e à área seca (Figuras 9 e 10).

Figura 9 - Recinto dos pinguins na Sabina Escola Parque do Conhecimento (vista interna)



Fonte: (NARITA, 2019).

Figura 10 - Recinto dos pinguins na Sabina Escola Parque do Conhecimento (vista externa)



Fonte: (NARITA, 2019).

O pinguinário é constituído de fotoperíodo o ano inteiro (Tabela 1), os animais foram alimentados três vezes ao dia, com diferentes espécies de peixes. A higienização do recinto foi realizado duas vezes ao dia e os cronogramas de enriquecimento ambiental foram mantidos de acordo com o calendário.

Tabela 1 – Fotoperíodo do pinguinário da Sabina Escola Parque do Conhecimento

<u>Data</u>	<u>Fotoperíodo</u>	<u>Total de horas de luz</u>
31/jan	05:00-19:30	14h30min
10/fev	05:30-19:30	14 h
24/fev	06:00-19:30	13h30 min
03/mar	06:15-19:00	12h45min
17/mar	06:30-18:30	12h
01/abr	07:00-18:15	11h15min
14/abr	07:30-18:00	10h30min
01/mai	08:00-18:00	10h30min
15/mai	08:30-18:00	9h30min
01/ago	08:00-18:00	10h
01/set	07:30-18:15	10h45min
12/set	07:00-18:30	11h30min
01/out	06:30-18:45	12h15min
13/out	06:00-19:00	13h
03/nov	5:30-19:15	13h45min

17/nov	05:00-19:30	14h30min
01/dez	05:00-20:00	15h

Fonte: (NARITA - Sabina Escola Parque do Conhecimento, 2020)

No período reprodutivo, no início do mês de setembro, foram instalados os ninhos, adaptando-os o mais parecido com o natural (Figura 11). Após iniciaram o comportamento sexual, foi ofertado feno esterilizado para os pinguins confeccionarem seus próprios ninhos (Figura 12).

Figura 11 - Instalação dos ninhos.



Fonte: (NARITA, 2020).

Figura 12 - Ninhos montados pelos pinguins.



Fonte: (NARITA, 2020).

Os pinguins foram analisados no período reprodutivo. Foram divididos em dois grupos (N = 20 animais), um grupo foi submetido ao tratamento com *Echinacea angustifolia* 6cH e *Avena Sativa* 6cH (N = 10 animais), chamado de grupo verum e o outro grupo, chamado de grupo controle (N = 10 animais), recebeu apenas o veículo inerte (Figura 13).

O trabalho foi realizado em cego, sendo o medicamento e o veículo inerte identificados por cores diferentes. Apenas após as avaliações estatísticas foi revelados o grupo e o medicamento e o veículo inerte referentes a cada cor.

Figura 13 - Grupos dos pinguins separados com a medicação controle e verum, identificadas pela cor



Fonte: (NARITA, 2020);

O grupo verum (cinco fêmeas e cinco machos) recebeu a administração de 2 glóbulos do complexo de *Echinacea angustifolia* 6cH e *Avena sativa* 6cH, via oral, dentro do peixe da alimentação e o grupo controle (cinco fêmeas e cinco machos) recebeu apenas os glóbulos de sacarose, sem medicamento, somente com veículo inerte (Figuras 14 e 15), duas vezes ao dia, durante os 10 primeiros dias de cada mês do período reprodutivo, no mês de setembro e outubro, quando ocorreram as posturas.

A escolha da potência das medicações, na 6cH, foi devido o conhecimento da dinamização e seu uso em casos físicos e agudos. Foi protocolado o uso em apenas os 10 primeiros dias de cada mês para mostrar a eficácia dos medicamentos homeopáticos em poucos dias de uso.

Figura 14 - Homeopatia colocada dentro do peixe.



Fonte: (NARITA, 2020).



Fonte: (NARITA, 2020).

Figura 15 - Alimentação dos pinguins com a homeopatia dentro do peixe.

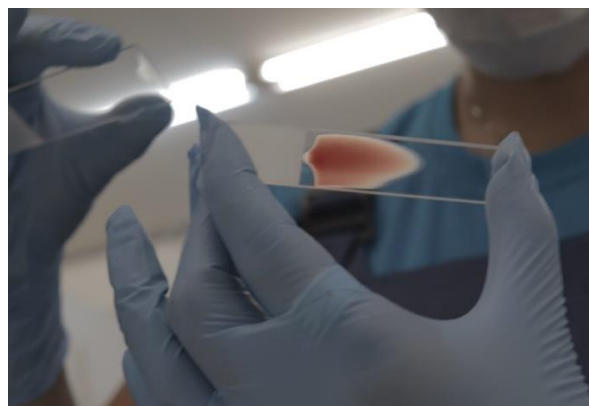
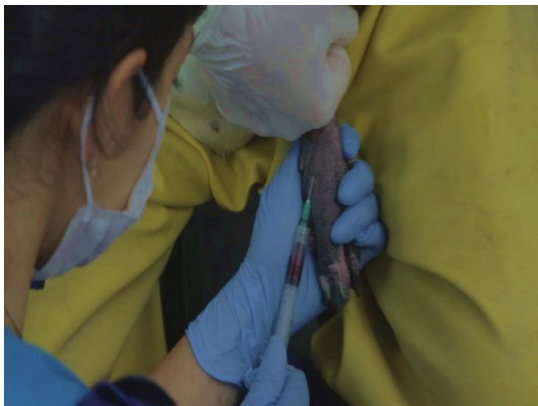


Fonte: (NARITA, 2020).

Foram realizadas duas coletas de no máximo 2 ml de sangue das veias metatársicas dos pinguins sob contenção física, utilizou-se uma lâmina extensora para a realização imediata do esfregaço sanguíneo e identificação da amostra. Foi utilizado corante Romanowsky – Panótico rápido para coloração após a secagem do material, o restante do material foi armazenado em microtubo com heparina lítica, mantido sob refrigeração (Figura 16 e 17). As amostras foram enviadas imediatamente ao laboratório da Universidade Santo Amaro (UNISA).

A primeira coleta foi realizada antes do início do período reprodutivo e a segunda coleta, após a postura do segundo ovo de cada casal pareado.

Figura 16 – Coleta de sangue e esfregaço sanguíneo.



Fonte: (ARQUIVO PESSOAL, DOMINGOS, 2020).

Fonte: (ARQUIVO PESSOAL, DOMINGOS, 2020).

Figura 17 - Fixador de lâmina e sangue armazenado em microtubo com heparina.



Fonte: (ARQUIVO PESSOAL, DOMINGOS, 2020).

Fonte: (ARQUIVO PESSOAL, DOMINGOS, 2020).

No laboratório de Análises Clínicas da UNISA as amostras foram recebidas em microtubos de heparina lítica, devidamente refrigeradas e identificadas, sem a presença de coágulos e viáveis para análise.

Foi estimado os seguintes parâmetros hematológicos: hemácias, hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM, CHCM, eritrócitos, proteína total, leucócitos e trombócitos, sendo realizado a contagem diferencial de heterófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos. Na contagem diferencial de leucócitos, a lâmina corada foi lida ao longo da zona, onde as células estão distribuídas em monocamada, contabilizando até 100 leucócitos, classificando-os e analisando a sua morfologia celular (Figura 18).

Para a contagem manual de hemácias e leucócitos foi utilizado 1ml de uma solução preparada no laboratório (50ml de soro fisiológico + 200µl de azul de cresil brilhante) misturado em 10µl do sangue total em um tubo de ensaio. Após essa preparação a Câmara de Neubauer foi preenchida por capilaridade.

Para a contagem das hemácias foram contados, de forma manual, cinco campos pequenos centrais da câmara e utilizado o fator de 5.050 para multiplicação (considerando a diluição realizada).

Para a contagem dos leucócitos foram contados, de forma manual, os quatro quadrados grande angulares da câmara (total de 64) da câmara e utilizado o fator de 252,50 para multiplicação (considerando a diluição realizada).

Para a realização do Hematócrito foram preenchidos tubos capilares e utilizada microcentrífuga da marca Fanem (7.000 5t64e'rpm por 5 minutos) para a separação das hemácias com o plasma. Após a separação foi realizada leitura a leitura em cartão de hematócrito. Após a leitura do hematócrito foi realizada a leitura da proteína plasmática total por método de refratometria.

A dosagem da hemoglobina foi realizada no aparelho Bioplus 2000 através da metodologia de Cianeto de hemiglobina (HiCN). Foi utilizado como diluente o kit comercial da empresa Labtest.

Os valores de VCM, HCM, CHCM, foram calculados conforme abaixo:

VCM (fL) – Hematócrito x 10 / N° hemácias

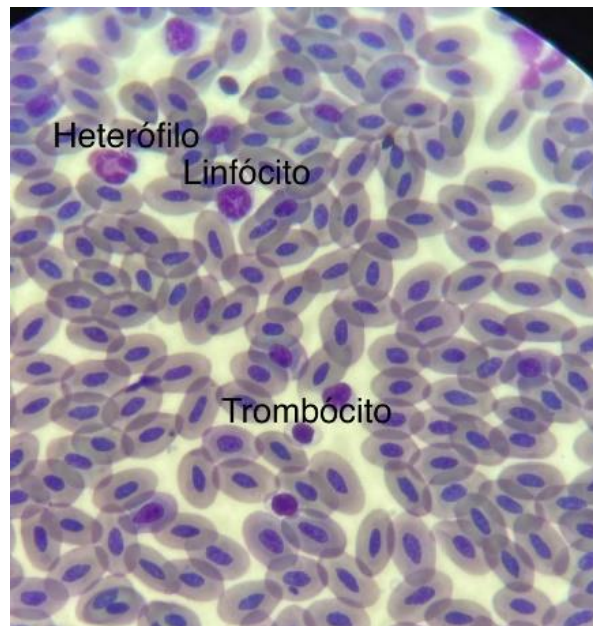
HCM (pg) – Hemoglobina x 10 / N° hemácias

CHCM (%) - Hemoglobina x 100 / Hematócrito

A contagem de trombócitos foi realizada quando possível pois, em diversas amostras ocorreu a agregação trombocitária. Foram contados os números de trombócitos presentes em 1.000 hemácias multiplicado pelo total de hemácias/1.000.

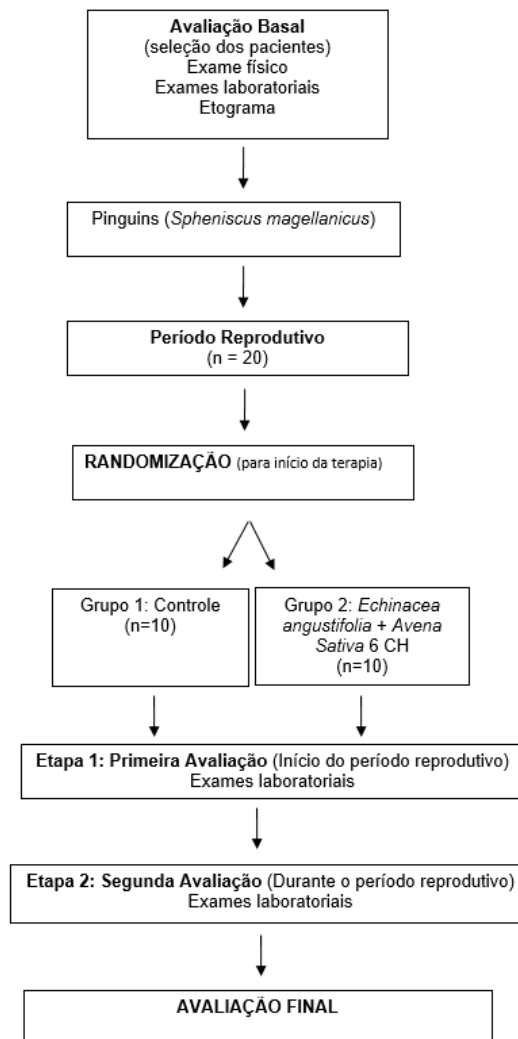
Os procedimentos para realização do hemograma baseado nos livros Hematologia e Citologia de Aves e Animais Exóticos (CAMPBELL; ELLIS, 2007) e Atlas de Hematologia Veterinária (REAGAN *et al.*, 2011). Os valores de referência utilizados foram baseados no livro Tratado de Animais Selvagens (SILVA-FILHO; RUOPPOLO, 2014) e no estudo de Gallo *et al.* 2019.

Figura 18 – Identificação das células



Fonte: (ARQUIVO PESSOAL, YANG, 2020).

Figura 19 – Desenho esquemático do projeto



Fonte: (NARITA, 2020).

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Diagramas de caixa (também conhecidos como boxplots) foram utilizados para representar a distribuição dos resultados hematológicos (mínimo, 1º quartil, mediana, 3º quartil, máximo e valores extremos). A análise de variância de duas vias (também conhecida como modelo linear ou Two-Way ANOVA) foi utilizada para determinar se o grupo experimental (controle ou verum) e o sexo do animal (macho ou fêmea) possuíam efeito significativo sobre a variação de cada parâmetro hematológico entre as amostras obtidas no início e no término do experimento (Δ variável = valor na coleta inicial – valor na coleta final). Para parâmetro hematológico em que os em que o sexo

não teve um efeito significativo sobre a variação dos resultados, a análise de variância foi refeita utilizando o grupo experimental como uma única variável dependente (One-Way ANOVA). O nível de significância foi de 0.05 para todos os testes.

6 RESULTADOS

A Tabela 2 e as Figuras 20 a 24 representam as comparações dos resultados hematológicos entre os grupos controles e verum. A análise estatística identificou que o grupo experimental (controle ou verum) apresentou um efeito significativo sobre as seguintes variáveis: (a) volume corpuscular médio (Figura 20b; $P = 0.049$), em que o grupo verum apresentou uma tendência de aumento (29.78 ± 52.95 fL) enquanto que o grupo controle mostrou uma tendência de estabilidade/redução (-3.08 ± 46.36 fL); (b) proporção de heterófilos (Figura 23b; $P = 0.010$), em que o grupo verum apresentou uma tendência de aumento (8.38 ± 12.53 %) menos acentuada do que o grupo controle (18.00 ± 9.37 %); (c) concentração de linfócitos (Figura 23c; $P = 0.001$), em que o grupo verum apresentou uma tendência de redução ($-4.39 \pm 2.21 \times 10^9$ células/L) menos acentuada do que o grupo controle ($-1.56 \pm 2.76 \times 10^9$ células/L); e (d) proporção de linfócitos (Figura 23d; $P = 0.002$), em que o grupo verum apresentou uma tendência de redução (-6.75 ± 10.35 %) menos acentuada do que o grupo controle (-17.3 ± 8.73 %).

Por outro lado, foi detectado um efeito significativo do sexo (mas não do grupo experimental) para as seguintes variáveis: (a) hematócrito (Figura 22a; $P < 0.001$), em que as fêmeas apresentaram uma tendência de redução (-6.18 ± 5.63 %) enquanto que os machos mostraram uma tendência de estabilidade/aumento (0.56 ± 4.78 %); e (b) concentração de hemoglobina (Figura 22b; $P = 0.005$), em que as fêmeas apresentaram uma tendência de redução (-2.86 ± 1.91 g/dL) mais intensa do que os machos (-1.14 ± 1.45 g/dL).

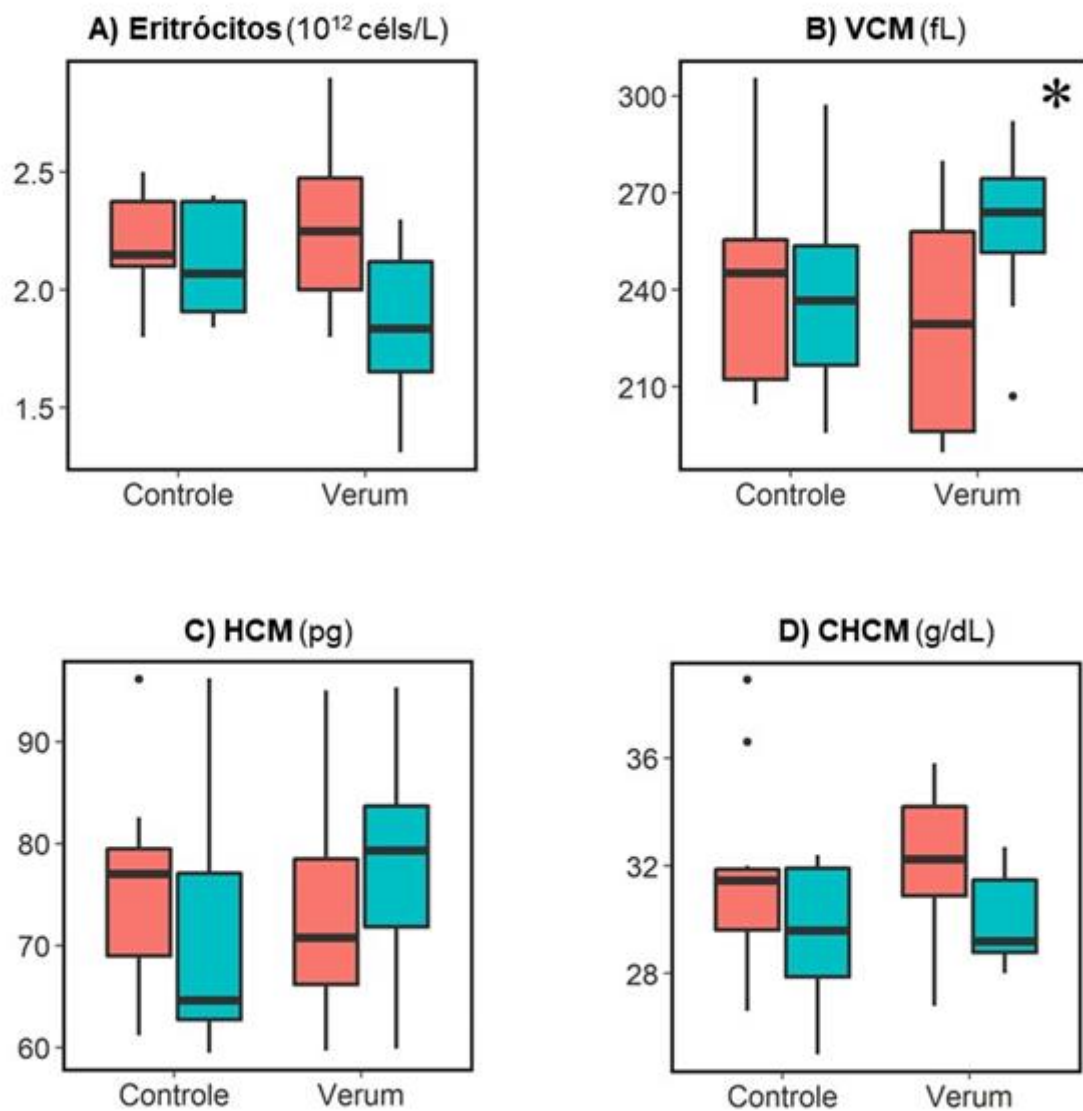
Tabela 2 - Sumário dos resultados hematológicos (média $\pm$ desvio-padrão) obtidos nas duas amostras colhidas (início e término do experimento) para dois grupos experimentais (controle e verum).

	Controle		Verum		Diferença entre coletas (Δ)		Significância (P)	
	Início	Término	Início	Término	Controle	Verum	Grupo	Sexo
Eritrócitos (10^{12} céls/L)	2.19 $\pm$ 0.24	2.12 $\pm$ 0.24	2.29 $\pm$ 0.38	1.86 $\pm$ 0.35	-0.07 $\pm$ 0.33	-0.43 $\pm$ 0.61	0.130	—
Hematócrito (%)	51.70 $\pm$ 3.71	49.80 $\pm$ 2.74	51.63 $\pm$ 3.62	47.68 $\pm$ 6.87	-1.90 $\pm$ 4.56	-3.95 $\pm$ 8.13	0.089	<0.001*
Hemoglobina (g/dL)	16.50 $\pm$ 1.55	14.75 $\pm$ 1.44	16.58 $\pm$ 1.40	14.26 $\pm$ 2.15	-1.75 $\pm$ 1.88	-2.31 $\pm$ 2.02	0.330	0.005*
VCM (fL)	241.3 $\pm$ 31.54	238.22 $\pm$ 31.56	230.16 $\pm$ 34.76	259.94 $\pm$ 28.34	-3.08 $\pm$ 46.36	29.78 $\pm$ 52.95	0.049*	—
HCM (pg)	75.98 $\pm$ 9.75	70.63 $\pm$ 11.9	73.94 $\pm$ 12.21	78.01 $\pm$ 10.88	-5.35 $\pm$ 14.83	4.08 $\pm$ 19.29	0.096	—
CHCM (g/dL)	31.68 $\pm$ 3.64	29.62 $\pm$ 2.52	32.20 $\pm$ 2.85	29.96 $\pm$ 1.77	-2.06 $\pm$ 3.33	-2.24 $\pm$ 3.58	0.875	—
PPT (g/L)	63.40 $\pm$ 6.67	61.20 $\pm$ 5.27	67.50 $\pm$ 10.89	65.50 $\pm$ 9.90	-2.20 $\pm$ 7.27	-2.00 $\pm$ 15.64	0.958	—
WBC (10^9 céls/L)	16.59 $\pm$ 3.83	11.19 $\pm$ 4.85	17.76 $\pm$ 4.68	14.74 $\pm$ 5.67	-5.40 $\pm$ 4.17	-3.03 $\pm$ 5.79	0.149	—
Heterófilos (10^9 céls/L)	7.27 $\pm$ 1.19	6.93 $\pm$ 2.59	10.71 $\pm$ 3.98	9.60 $\pm$ 3.59	-0.34 $\pm$ 2.84	-1.11 $\pm$ 4.19	0.503	—
Linfócitos (10^9 céls/L)	8.05 $\pm$ 3.55	3.66 $\pm$ 3.52	5.75 $\pm$ 1.22	4.19 $\pm$ 2.99	-4.39 $\pm$ 2.21	-1.56 $\pm$ 2.76	0.001*	—
Eosinófilos (10^9 céls/L)	0.55 $\pm$ 0.46	0.41 $\pm$ 0.39	0.58 $\pm$ 0.88	0.33 $\pm$ 0.36	-0.14 $\pm$ 0.61	-0.25 $\pm$ 0.89	0.643	—
Monócitos (10^9 céls/L)	0.72 $\pm$ 0.82	0.19 $\pm$ 0.20	0.72 $\pm$ 0.43	0.59 $\pm$ 0.48	-0.53 $\pm$ 0.86	-0.13 $\pm$ 0.54	0.100	—
Basófilos (10^9 céls/L)	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.06	0.00 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.06	—	—
Heterófilos (%)	46.10 $\pm$ 11.71	64.1 $\pm$ 12.96	58.88 $\pm$ 8.46	67.25 $\pm$ 12.7	18.00 $\pm$ 9.37	8.38 $\pm$ 12.53	0.010*	—
Linfócitos (%)	46.80 $\pm$ 10.21	29.5 $\pm$ 12.73	33.13 $\pm$ 4.88	26.38 $\pm$ 11.69	-17.3 $\pm$ 8.73	-6.75 $\pm$ 10.35	0.002*	—
Eosinófilos (%)	3.30 $\pm$ 2.36	4.00 $\pm$ 3.89	3.63 $\pm$ 5.48	2.00 $\pm$ 1.93	0.70 $\pm$ 4.35	-1.63 $\pm$ 5.45	0.151	—
Monócitos (%)	3.80 $\pm$ 3.61	2.40 $\pm$ 3.44	4.38 $\pm$ 2.97	4.25 $\pm$ 2.66	-1.40 $\pm$ 5.52	-0.13 $\pm$ 3.36	0.410	—
Basófilos (%)	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.13 $\pm$ 0.35	0.00 $\pm$ 0.00	0.13 $\pm$ 0.35	—	—

Os valores de significância (P) para a comparação das diferenças entre coletas para os dois grupos experimentais e entre os dois sexos também são apresentados, sendo que valores significativos ($P < 0.05$) são destacados com asteriscos.

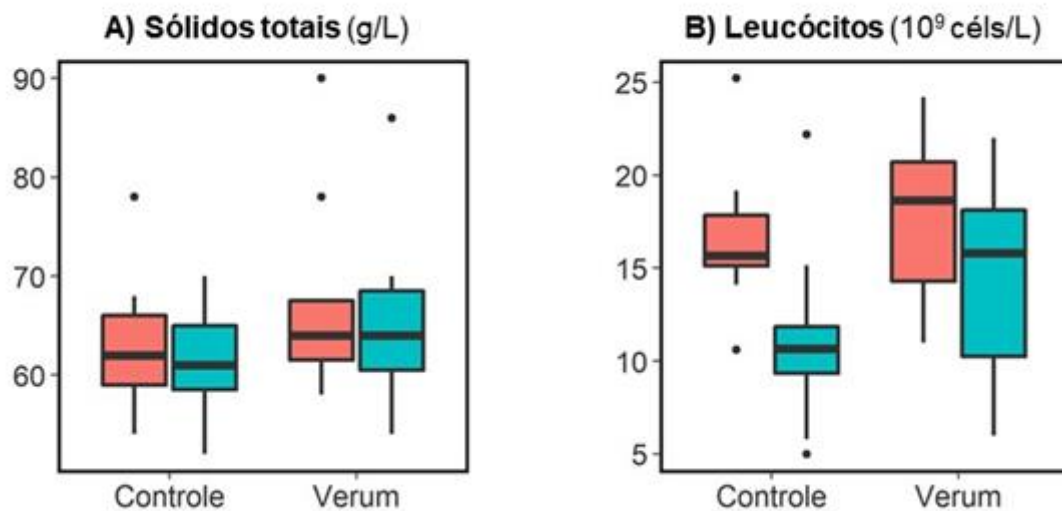
Fonte: (NARITA e VANSTREELS , 2021).

Figura 20. Diagrama de caixas (boxplot) comparando a contagem total de eritrócitos, o volume corpuscular médio (VCM), a hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em amostras de sangue colhidas ao início (vermelho) e ao término (azul) do experimento. O asterisco é utilizado para indicar variáveis em que os grupos Controle e Verum apresentaram padrões distintos na mudança entre as amostras colhidas ao início e ao término ($P < 0.05$).



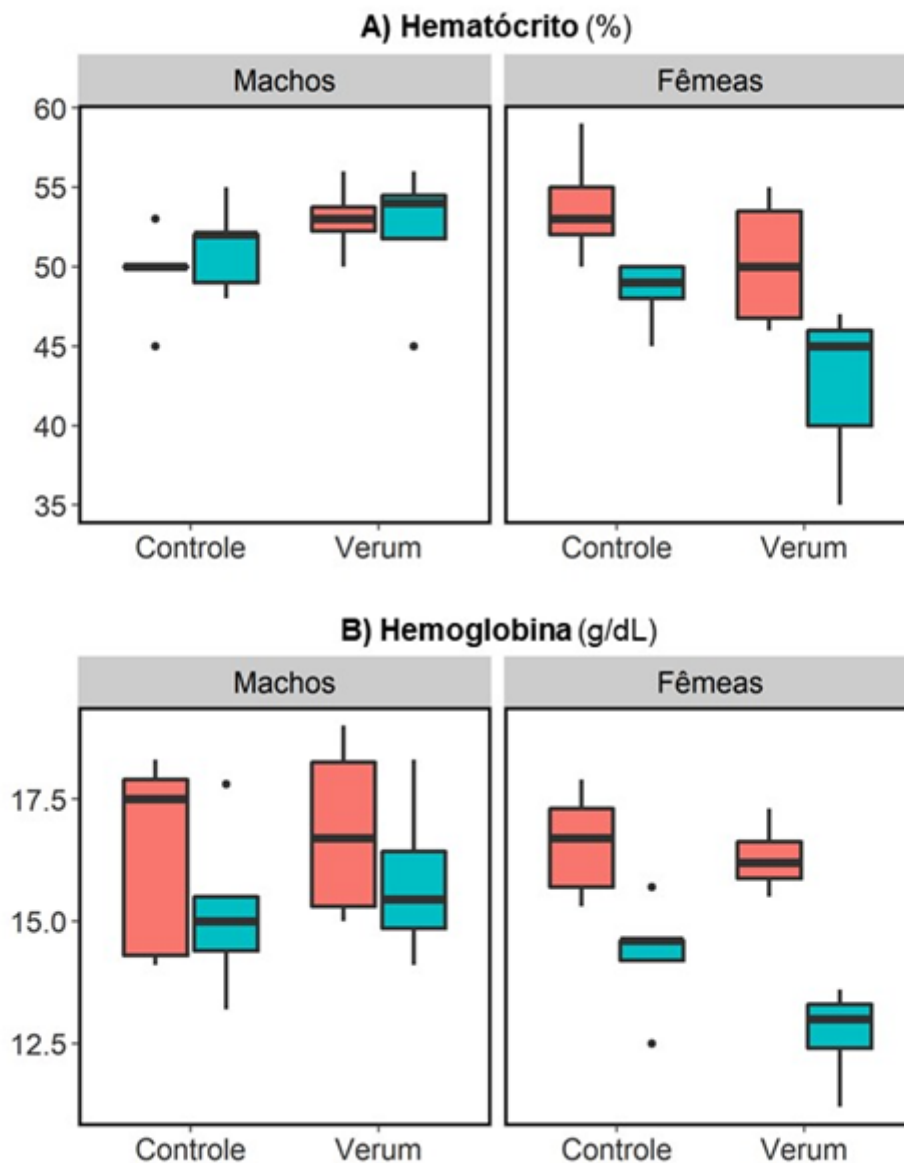
Fonte: (NARITA e VANSTREELS , 2021).

Figura 21. Diagrama de caixas (boxplot) comparando a concentração plasmática de sólidos totais e de leucócitos totais em amostras de sangue colhidas ao início (vermelho) e ao término (azul) do experimento. Os grupos Controle e Verum apresentaram padrões similares de mudança entre as amostras colhidas ao início e ao término para ambas as variáveis ($P > 0.05$).



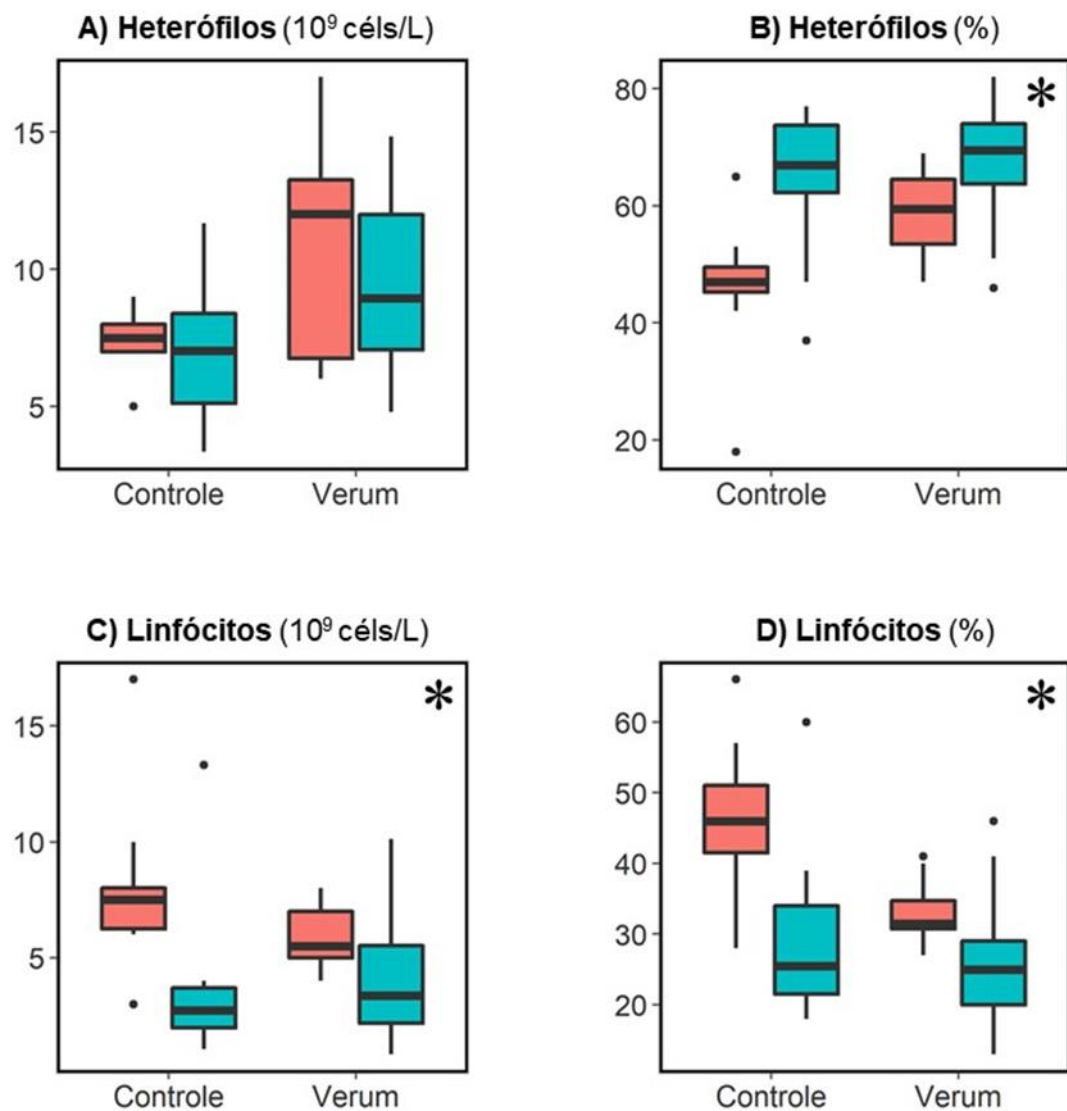
Fonte: (NARITA e VANSTREELS , 2021).

Figura 22. Diagrama de caixas (boxplot) comparando o hematócrito e a concentração de hemoglobina em amostras de sangue colhidas ao início (vermelho) e ao término (azul) do experimento. Os grupos Controle e Verum apresentaram padrões similares de mudança entre as amostras colhidas ao início e ao término para ambas as variáveis ($P > 0.05$), porém o padrão de mudança foi distinto entre machos e fêmeas para ambas variáveis ($P < 0.05$).



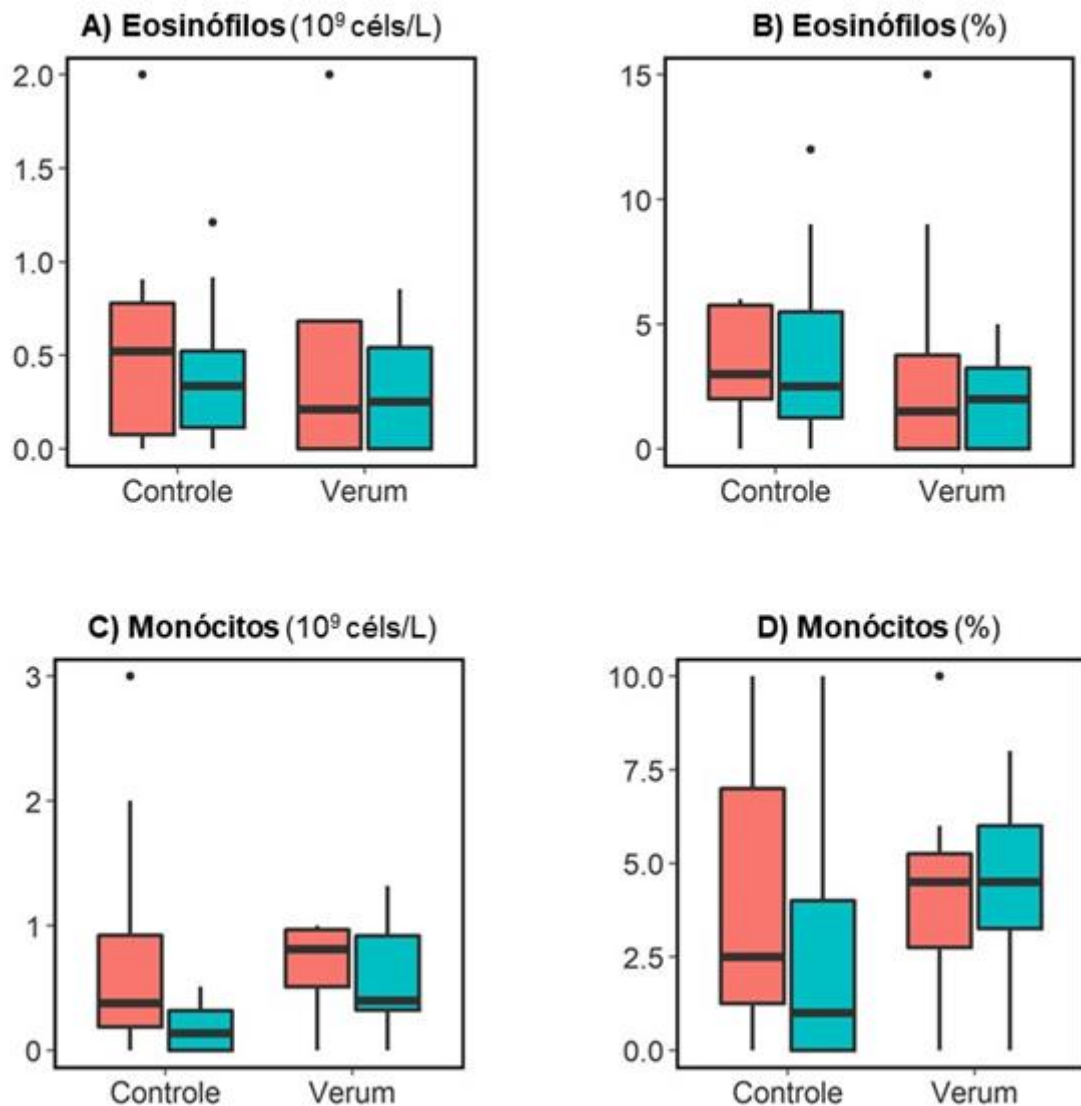
Fonte: (NARITA e VANSTREELS , 2021).

Figura 23. Diagrama de caixas (boxplot) comparando a concentração total e a proporção relativa de heterófilos e linfócitos em amostras de sangue colhidas ao início (vermelho) e ao término (azul) do experimento. Asterisco são utilizados para indicar variáveis em que os grupos Controle e Verum apresentaram padrões distintos na mudança entre as amostras colhidas ao início e ao término ($P < 0.05$).



Fonte: (NARITA e VANSTREELS , 2021).

Figura 24. Diagrama de caixas (boxplot) comparando a concentração total e a proporção relativa de eosinófilos e monócitos em amostras de sangue colhidas ao início (vermelho) e ao término (azul) do experimento. O asterisco é utilizado para indicar variáveis em que os grupos Controle e Verum apresentaram padrões distintos na mudança entre as amostras colhidas ao início e ao término ($P < 0.05$).



Fonte: (NARITA e VANSTREELS , 2021).

7 DISCUSSÃO

A hematologia é uma ferramenta fundamental para a detecção precoce de doenças em aves, sendo que, mesmo sem a presença de sinais clínicos, podem ocorrer alterações hematológicas que fornecerão ao clínico uma via para instaurar o tratamento precocemente (PINTO,2017).

Em análise realizada em 27 amostras de sangue de pinguins de Magalhães em reabilitação no Espírito Santo obteve-se a média de VCM de $172,0 \pm 53,0$ fL e para CHCM obteve-se a média de $26,41 \pm 0,02\%$ (MAYORGA *et al.*, 2016), enquanto no presente trabalho os valores médios foram VCM entre 230.16 ± 34.76 a 259.94 ± 28.34 e HCM 70.63 ± 11.9 a 78.01 ± 10 . Corroborando com resultados superiores encontrados por Silva Filho & Ruoppolo (2014).

Rodrigues *et al.* (2010) ressaltou a importância da análise do hematócrito na reabilitação de pinguins de magalhães no Brasil, como auxílio para compreender o quadro de saúde. A presença de anemia em pinguins de magalhães em período de pré-reabilitação indica maior risco de morte (CORAIOLA *et al.*, 2014), os animais do presente estudo antes do período reprodutivo apresentaram média de hematócrito de 51.70 ± 3.71 e durante o período reprodutivo apresentaram média 49.80 ± 2.74 , apresentando menos risco a saúde dos animais, não estando com anemia e diferença no período da reprodução, já que o valor de médio de hematócrito de 48.00 ± 4.15 é considerado valores de animais saudáveis (GALLO *et al.*, 2019).

Em pinguins de vida livre há algumas diferenças celulares entre sexos, os machos apresentam valores menores de WBC que fêmeas, enquanto em heterófilos e eosinófilos mantiveram valores superiores, durante a fase reprodutiva, os machos se envolvem em lutas violentas por causa dos ninhos, a maior proporção de heterófilos dos machos poderia estar relacionado ao estresse e imunidade, respostas associadas a brigas e ferimentos resultantes (MORENO *et al.*, 2002; GALLO *et al.*, 2019).

As fêmeas em vida livre podem apresentar alterações em parâmetros celulares de acordo com a fase reprodutiva, na data da postura o hematócrito reduz (MORENO *et al.*, 2002). Enquanto os valores dos linfócitos diminuem durante a reprodução, especialmente em machos, observado em animais de vida livre (PALACIOS *et al.*, 2018). Corroborando com achado do presente trabalho, no qual os níveis do hematócrito e hemácia se mantiveram semelhantes em machos e apresentou declínio em fêmeas, no período de reprodução. Foi observado também uma diferença altamente significativa no leucograma inicial em casais com experiência reprodutiva de casais sem experiência reprodutiva, apresentando valores mais altos de glóbulos brancos em casais tardios, sem experiência reprodutiva (MORENO *et al.*, 1998).

A linfopenia pode ser observada como resultado do excesso de corticosteroide endógenos ou exógenos (HARMON, 1998). No presente trabalho houve diferença significativa entre os grupos, sendo que no grupo controle houve redução mais

acentuada que no grupo verum, o que corrobora com a hipótese de menor porcentagem de corticosteroides endógenos neste grupo, os medicamentos homeopáticos são conhecidos por provocarem no organismo animal uma imunomodulação (COELHO *et al.*, 2017).

Em pinguins de Galápagos não houve diferença entre os sexos em glóbulos brancos. Exceto nas fêmeas que apresentaram eosinófilos mais elevados que os machos (TRAVIS *et al.*, 2006). Em pinguins africanos (*Spheniscus demersus*) a contagem de leucócitos não mostrou diferença entre os sexos, mas houve diferença significativa regionalmente (PARSONS *et al.*, 2015). Corroborando com presente trabalho que não observou diferença em glóbulos brancos, somente em glóbulos vermelhos.

Os valores de MCV, MCH, heterófilos, razão H / L, ALT e CI- obtiveram correlação positiva significativa com a idade, enquanto correlação negativa significativa com a idade foi observada em eritrócitos, linfócitos e trombócitos. As razões H / L mais altas foram observadas em pinguins mais velhos, as quais podem não ser atribuídas ao estresse, mas a mudanças fisiológicas normais em pinguins de gentoo, adeli e macaroni (CHEN *et al.*, 2018). O presente trabalho não observou correlação entre parâmetros hematológicos e idade em pinguins-de-Magalhães.

Em estudo de Parsons *et al* (2015) com pinguins africanos as contagens de hematócrito, hemoglobina e hemácias foram significativamente maiores nos machos em comparação com as fêmeas ($p < 0,05$). Corroborando com achado do presente trabalho, no qual os níveis do hematócrito e hemácia se mantiveram semelhantes em machos e apresentou declínio em fêmeas, entre o período de reprodução. Diferença já visualizada em estudo de Moreno *et al.* (2002), no qual o hematócrito também foi mais alto em machos de pinguins de Magalhães.

A homeopatia é uma medicina que visa manter o equilíbrio e prioriza a saúde do paciente. Já foi demonstrado benefícios em diversos estudos em animais, com ausência de efeitos colaterais, (SOTO *et al*, 2008; COELHO *et al.*, 2017; VALENTE *et al.*, 2017; BALBUENO *et al.*, 2020), como também em estudos in vitro (NAGAI *et al.*, 2019; KAHN *et al.*, 2020), sendo demonstrado inclusive sucesso no tratamento de pododermatite observado em pinguins de Magalhães no trabalho de NARITA *et al.* (2020).

Os pinguins-de-Magalhães apresentaram pododermatite de diferentes graus, a homeopatia demonstrou melhora do quadro e constituiu-se em uma terapia rápida e

eficaz, assim como em outro trabalho publicado por NARITA *et al.* (2021), os medicamentos ultradiluídos demonstraram sua eficácia em diferentes espécies, sobre a redução total do fibropapiloma sem causar recidiva, comumente observada em tratamento convencional, sem submetê-lo a procedimento cirúrgico e anestésico.

Como uma grande quantidade dos pinguins podem ser reintroduzidos para o seu habitat natural novamente, é interessante utilizar um medicamento que não cause efeito colateral de forma aguda ou crônica. Muitos desses animais após serem soltos não serão avaliados de forma periódica, então conseguindo tratar o animal com algo que futuramente não piore as condições do paciente é válido (NARITA, F., COELHO, C., 2020).

Estudo realizado com extratos de *Echinacea angustifolia* e *E. purpurea* observaram efeito antiproliferativo, além de hipoglicemiante nos extratos das plantas (AARLAND *et al.*, 2017). Ainda com a terapia com ambos os extratos em mulheres com condilomatose foi observado efeitos imunomodulatórios (ROSA *et al.*, 2019).

Extratos de *Avena sativa* reduziram as citocinas pró-inflamatórias *in vitro* (REYNERTSON *et al.*, 2015). A suplementação com extrato da aveia em mulheres em 29 dias demonstrou melhora da função cognitiva aguda, resultado que corrobora que a suplementação crônica pode beneficiar a função cognitiva e modular a resposta fisiológica a um estresse (KENNEDY *et al.*, 2020). Entretanto, a administração de extratos pode apresentar reações adversas, dentre as ervas mais relatadas em eventos adversos encontra-se a *Avena sativa* (SHARMA; GELIN; SARKAR, 2020), diferente do medicamento homeopático que é diluído e dinamizado, reduzindo o risco de efeito colateral.

Sabe-se que o uso das medicações escolhidas (*Echinacea angustifolia* e *Avena sativa*) apresentaram resultados positivos em outros estudos científicos, como de Oliver (2006) no experimento com recém-nascidos de suínos, foi observado o uso de *Echinacea angustifolia* como efeito imunoestimulante, promovendo crescimento e fornecendo um grau de proteção inespecífica influenciando significativamente o aumento de ganho médio diário de massa corporal dos recém-nascidos até o desmame, Pedalino *et al.* (2006) com o uso da *Echinacea* e *Belladonna* em camundongos, obteve como resultado a modulação da reação inflamatória peritoneal e ação citoprotetora sobre leucócitos, modificando a migração celular para o foco inflamatório no sentido de agudizar o processo, aumentando a migração celular de polimorfonucleares e reduzindo a migração de linfócitos e macrófagos.

Felippelli & Valente (2009) fizeram uso da medicação *Echinacea angustifolia* 12cH e demonstraram eficiência na profilaxia de afecções intestinais e redução do estresse pós desmame em leitões de 7 a 28 dias de idade quando comparado ao grupo não tratado. Estudo de Bruno et al. (2020) utilizando o complexo de *Avena sativa* e *Echinacea angustifolia*, demonstrou diminuição no valor de eosinófilos e da creatinina de cães senis de uma Ong em Ribeirão Pires – SP.

O uso de medicamentos homeopáticos na medicina veterinária de animais selvagens demonstrou resultados positivos, mesmo após o animal ter sido tratado com medicamentos alopáticos que não foram capazes de tratar a doença ou alteração comportamental que o animal apresenta. Uso de medicamentos homeopáticos diminuem o custo financeiro do tratar um animal em reabilitação e o estresse que o animal poderia passar para receber a medicação adequada (COELHO, C; VON ANCKEN, A.C.B, 2019; MELO, et al., 2021).

8 CONCLUSÃO

Comparando o efeito de coleta, antes do início reprodutivo com a coleta no período reprodutivo, entre ambos os grupos, independente do tratamento, houve diferença em VCM, heterófilos e linfócitos.

O tratamento com *Echinacea angustifolia* e *Avena sativa* resultou na manutenção dos linfócitos em período de reprodução em pinguins-de-Magalhães, auxiliando a imunidade das aves.

REFERÊNCIAS

- AARLAND, R. C. *et al.* Studies on phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycaemic and antiproliferative activities of *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia* extracts. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n.1, p. 649–656, 2017.
- ABO GHANIMA *et al.* Impact of different rearing systems on growth, carcass traits, oxidative stress biomarkers, and humoral immunity of broilersexposed to heat stress. **Poultry Science**, v.99, p. 3070–3078, 2020.
- ANCEL, A.; BEAULILEU, M.; GILBERT, C. The different breeding strategies of penguins: a review. **Comptes rendus biologies**, v.336, n.1, p. 1-12, 2013.
- BALBUENO, M. C. S.; PEIXOTO JUNIOR, K. D. C.; COELHO, C. P. Evaluation of the Efficacy of *Crataegus oxyacantha* in Dogs with Early-Stage Heart Failure. **Homeopathy**. v. 109, n. 4, p. 224-229, Nov 2020.
- BARCELOS, R. P.; FILADELPHO, A. L.; BARONIA, S.; GRAÇA, W. J. The morphology of the pineal gland of the Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus* Forster, 1781). **Journal of Morphological Sciences**, v.32, n.3, p. 149-156, 2015.
- BIRDLIFE INTERNATIONAL. Species factsheet: *Spheniscus magellanicus*. Disponível em: <http://www.birdlife.org>. Acesso em: 17/08/2021.
- BEDANOVA, I. *et al.* The haematological profile of broilers under acute and chronic heat stress at 30 ± 1 °C level. **Folia Veterinaria**, v.47, p.188–192, 2003.
- BOERSMA, P. D.; STOKES, D. L. Mortality patterns, hatching asynchrony, and size asymmetry in Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*) chicks. in P. Dann, I. Norman, and P. Reilley, editors. **The penguins: ecology and management**. Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton, NSW, Australia. Pages 3–25, 1995.
- BOERSMA, P. D.; PARRISH, J. K. Limiting abuse: marine protected areas, a limited solution. **Ecological Economics**, v.31, p. 287–304, 1999.
- BOERSMA, P. D. Penguins as marine sentinels. **BioScience**, Reston, v. 58, p. 597-607, 2008.
- BOERSMA P. D. *et al.* Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*). In: García-Borboroglu P, Boersma P.D. **Penguins: natural history and conservation**. University of Washington Press, Seattle, 2013.
- BOERSMA, P. D.; REBSTOCK, G. Climate change increases reproductive failure in Magellanic penguins. **PLoS One**, v.9, n.1, 2014.
- BOERSMA, P. D. *et al.* Pinguino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*). In: Garcia Borboroglu, P.; Boersma, P. D., eds.) **Pinguinos: Historia Natural y Conservacion**. Vazquez Mazzini Editores, Buenos Aires, Argentina, 2015.

BOERSMA, P. D.; REBSTOCK, G. A.; GARCÍA-BORBOROGLU, P. Marine protection is needed for Magellanic penguins in Argentina based on long-term data. **Biological Conservation**, v. 182, p. 197-204, 2015.

BRUNINI, C.; SAMPAIO, C. As escolas Homeopáticas. In: BRUNINI, C.; SAMPAIO C. **Homeopatia: princípios doutrina, farmácia**. São Paulo: Mythos, cap. XII, p. 229-236, 1993.

BRUNO *et al.* Avena sativa e echinacea angustifolia modificam padrões de eosinófilos em cães senescentes. Tese de Mestrado – Universidade Santo Amaro, 2020.

CAPITELLI R.; CROSTA L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 16, p.71-120, 2013.

CAMPBELL, T. W.; ELLIS, C. K. **Avian and exotic animal hematology and cytology**. 3. ed. Ames: Blackwell Publishing Professional, 2007.

CAMPBELL, T. W.; WEISER, G.; ALLISON, W, R; THRALL, A, M. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. Roca, 2015.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E.N.C. Estudo dos parâmetros hematológicos em frango de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.70, n.4, p.419-424, 2003.

CERCHIARA, J. A. *et al.* Magellanic penguin telomeres do not shorten with age with increased reproductive effort, investment, and basal corticosterone. **Ecology and evolution**, v.7, n.15, p.5682–5691, 2017.

CHEN S-Y. *et al.* Influence of biological factors on hematological and serum biochemistry values in captive Adélie, Chinstrap, Gentoo, and Macaroni penguins in Pingtung, Taiwan. **Zoo Biology**. v. 37, p. 183–195, 2018.

CİRULE, D.; KRAMA, T.; VRUBLEVSKA, J.; RANTALA, M. J; KRAMS, I. A rapid effect of handling on counts of white blood cells in a wintering passerine bird: a more practical measure of stress? **Journal of Ornithology**, Heidelberg, v. 153, p. 161-166, 2012.

CLAUSEN, J.; VAN WIJK, R.; ALBRECHT, H. Geographical and temporal distribution of basic research experiments in homeopathy. **Homeopathy**, v.103, n.3, p.193-197, 2014.

COCKREM, J. F. Circadian rhythms of plasma melatonina in the Adelie penguin (*Pygoscelis adeliae*) in constant dim light and artificial photoperiods. **Journal of Pineal Research**, v. 11, n.2, p. 63-69, 1991.

COELHO C, VON ANCKEN ACB. **Uso da homeopatia na medicina clínica e preventiva de animais selvagens**. In: Boletim técnico ABRAVAS Brasil, 2019.

COELHO, C. *et al.* Homeopathy medicine *Cantharis* modulates uropathogenic *E. coli* (UPEC)-induced cystitis in susceptible mice. **Cytokine**, v.92, p.103-109, 2017.

CORAIOLA, A. M.; KOLESNIKOVAS, C. K. M.; KRUL, R., MANGINI, P. R.; LOCATELLI-DITTRICH, R. Clinical, hematological, total plasma protein and fibrinogen parameters of magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) pre- and post-rehabilitation. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 43–48, 2014.

CORRÊA, A. D.; BATISTA, R. S.; QUINTAS, L. E. M.; BATISTA, R. S. *Similia similibus curentur*: revisando aspectos históricos da homeopatia nove anos depois. **História, Ciência, Saúde- Manguinhos**, Rio de Janeiro, v.13, n.1, p.13-31, 2006.

COSTA, N. C.; ARAÚJO, R. L.; FREITAS, G. B. L. Homeopatia: um campo terapêutico fundamental no cuidado veterinário de animais de produção. **Revista Salus-Guarapuava (PR)**, v. 3, n. 2, p. 75-89, 2009.

CRANFIELD, M. R. Sphenisciformes (penguins). In: FOWLER, M.E.; MILLER, E.R. **Zoo and wild animal medicine**. 5. ed. St. Louis: W.B Saunders. 2003. p. 103-110.

CRAWFORD, R, Ellenberg U.; Frere, E., Hagen, C., Baird, K.; Brewin, P., Crofts, S.; Glass, J.; Mattern, T.; Pompert, J. Tangled and drowned: a global review of penguin bycatch in fisheries. **Endangered Species Research**, v. 34, p. 373-396, 2017.

DE ROSA, N. *et al.* Effect of Immunomodulatory Supplements Based on *Echinacea Angustifolia* and *Echinacea Purpurea* on the Posttreatment Relapse Incidence of Genital Condylomatosis: A Prospective Randomized Study. **BioMed research international**, 2019.

ELLIS, H. I.; GABRIELSEN, G. W. Energetics of free-ranging seabirds. In: CHREIBER, E. A.; BURGER, J. **Biology of marine birds**. Florida: Crc Press, p. 360-395, 2002.

EUROPEAN ASSOCIATION OF ZOOS AND AQUARIA. **EAZA ISIS**: Spheniscus penguin husbandry manual. [S.l.]: Ames, 1993. 177 p.

FELIPELLI, G.; VALENTE, P.P Utilização de medicamentos homeopáticos incorporados à ração de leitões e avaliação da incidência de afecções do 7 ao 28 dia de idade. **Nucleus Animalium**, v.1, n.1, maio 2009.

FORCADA, J.; TRATHAN, P. N. Penguin responses to climate change in the Southern Ocean. **Global Change Biology**, v15, p.1618– 1630, 2009.

FUDGE, A. M. Avian Complete Blood Count. In: FUDGE, A. M. **Laboratory Medicine – Avian and Exotic Pets**; W.B Saunders, p. 9-18, 2000.

GALLO, L. *et al.* Hematology, plasma biochemistry, and trace element reference values for free-ranging adult Magellanic Penguins (*Spheniscus magellanicus*). **Polar Biology**, v. 42, p. 733–742, 2019.

GOLDSTEIN, D. L. Water and salt balance in seabirds. In: CHREIBER, E. A.; BURGER, J. **Biology of marine birds**. Florida: CRC Press, p. 467-483, 2002.

GROSS, W. B.; SIEGEL, H. S. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Diseases**, v.27, n.4, p.972-979, 1983.

HARMON, B.G. Avian heterophils in inflammation and disease resistance. **Poult.Sci.**, Champaign, v.77, n.6, p. 972-977, 1998.

HURTADO, R. *et al.* **Manual de terapia intensiva para pinguins recolhidos na costa brasileira**. Cariacica, ES: Instituto de Pesquisa e Reabilitação de Animais Marinhos (IPRAM) e Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE), p. 63, 2018.

IUCN. The IUCN Red list of threatened species. Version 2021-2022. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 27/11/2021.

KHAN, S. *et al.* In Vitro Assessment of Homeopathic Potencies of Hydrastis canadensis on Hormone-Dependent and Independent Breast Cancer. **Homeopathy : the journal of the Faculty of Homeopathy**, v.109, n.4, p. 198–206, 2020.

KENNEDY, D. O. *et al.* Acute and Chronic Effects of Green Oat (*Avena sativa*) Extract on Cognitive Function and Mood during a Laboratory Stressor in Healthy Adults: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Study in Healthy Humans. **Nutrients**. v.12, n.6, p. 1598, 2020.

KRIVANKOVA T. *et al.* Comparison of selected indices of internal environment and condition of laying hens kept in furnished cages and in aviaries. **Animal Science Journal**. V. 91, 2020.

LARKIN, M. A closer look at veterinary homeopathy: what is the modality's place in the profession? **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 01 mai. 2017.

LOPES, J. S. *et al.* Terapia alternativa para o tratamento da depressão: medicamentos homeopáticos. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA**, v. 10, n. 1, 2019.

MÄDER, A.; SANDER, M.; CASA JR, G. Ciclo sazonal de mortalidade do pinguim-de-magalhães, *Spheniscus magellanicus* influenciado por fatores antrópicos e climáticos na costa do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Ornitologia**, São Paulo, v. 18, n. 3, p. 228-233, 2010.

MARINAO, C.; GÓNGORA, M. E.; GONZÁLEZ ZEVALLOS, D.; YORIO, P. Factors affecting Magellanic Penguin mortality at coastal trawlers in Patagonia, Argentina. **Ocean and Coastal Management**, v. 93, p. 100–105, 2014.

MAYORGA. *et al.* Valores hematológicos e bioquímicos de pinguins-de-Magalhães em reabilitação no Espírito Santo, sudeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n.1, p. 65-70, 2016.

MELO. *et al.* **Lachesis muta e folliculinum na regulação do ciclo estral de onça-parda (*Puma Concolor*)**. In: XXIX Encontro e XXIII Congresso Abravas, 2021.

MITCHELL, E. B.; JOHNS, J. Avian hematology and related disorders. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 11, p. 501-522, 2008.

MORAIS, J. *et al.* Clinical biochemistry of rescued Magellanic Penguins (*Spheniscus magellanicus*): Serum or heparinized plasma? **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 71, n.3, p. 782–790, 2019.

MORENO, J.; DE LEO´N A.; FARGALLO, J.A.; MORENO, E. Breeding time, health and immune response in the chinstrap penguin *Pygoscelis antarctica*. **Oecologia**, v.115, p. 312-319, 1998.

MORENO J., *et al.* Health state and reproductive output in Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*). **Ethology Ecology & Evolution** v.14, p. 19-28, 2002.

NAGAI, M. Y. *et al.* Effects of Homeopathic Phosphorus on Encephalitozoon cuniculi-Infected Macrophages In-Vitro. **Homeopathy: the journal of the Faculty of Homeopathy**, v.108, n.3, p.188–200, 2019.

NARITA, F.; COELHO, C. Control of liver enzymes in Magellanic Penguins Through Ultra-diluted medicine. **Homeopathy**. 2020 Available at: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0040-1702075> Accessed on: 10 / November / 2021.

NARITA, F.B.; SCARDOELI, B.; GALLO NETO, H.; COELHO, C.P. Homeopathic Treatment of Pododermatitis in Magellanic Penguins (*Spheniscus magellanicus*). **Homeopathy**. v.110, n.1, p. 62-66, 2020.

NARITA, F.B.; BALBUENO M.C.; SCARDOELI, B.; GALLO NETO, H.; COELHO, C.P. Treatment of Fibropapillomatosis in a Green Sea Turtle (*Chelonia mydas*) Using Ultra-Diluted: Case Report. **Integr J Vet Biosci**. v. 5, n.2, p. 1-3, 2021.

NELSON, J. B.; BAIRD, P. H. Seabird Communication and Displays. In: CHREIBER, E. A.; BURGER, J. **Biology of marine birds**. Florida: CRC Press, p. 307-357, 2002.

O'BRIEN, J. K. *et al.* Reproductive physiology of the female Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*): Insights from the study of a zoological colony. **Gen. Comp. Endocrinol**, v. 225, p. 81-94, 2015.

O'BRIEN, J. K. *et al.* Male reproductive physiology and the development of artificial insemination in the magellanic penguin (*spheniscus magellanicus*) using chilled-stored semen. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.47, n.1, p. 206–222, 2016.

OLIVER, A. *et al.* "Efecto de la combinación del extracto homeopático de *Echinacea angustifolia* dc con acupuntura en puntos de Inmunoestimulación Inespecífica en cerdos recién nacidos." **Revista Electrónica de Veterinária – REDVET**, v.7, n.11, p.1-5, 2006.

O'MALLEY, B. **Clinical anatomy and physiology of exotic species**: avian anatomy and physiology. London: Elsevier, p. 97-161, 2005.

PARSONS, N. J.; SCHAEFER, A.M.; VAN DER SPUIY, S.D.; GOUS, T. A. Establishment of baseline haematology and biochemistry parameters in wild adult African penguins (*Spheniscus demersus*), **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 86, n.1, 2015.

PALACIOS, M. G.; D'AMICO, V.L.; BERTELLOTTI, M. Ecotourism effects on health and immunity of Magellanic penguins at two reproductive colonies with disparate touristic regimes and population trends. **Conserv Physiol**, v. 6, n. 1, 2018.

PEDALINO, C. *et al.* Effect of *Atropa belladonna* and *Echinacea angustifolia* in homeopathic dilution on experimental peritonitis. **International Journal of High Dilution Research**, 2006.

PEDALINO, C. Medicamentos homeopáticos em acordes de potência. **Cultura Homeopática**, v.16, p. 18-21, 2006.

PETRY, M. V.; FONSECA, V. S. S. Effects of human activities in the marine environment on seabirds along the coast of Rio Grande do Sul, Brazil. **Ornitologia Neotropical**, Montréal, v. 13, p. 137-142, 2002.

PENNEY, R. L.; Molt in the Adelie Penguin. **The Auk, American Ornithological Society**, v. 84, n.1, p. 61-71, 1967.

PINTO, F. M. S. C.; HOLM, S. B.; GONDIM, L. D. Q. **ATLAS VIRTUAL DE HEMATOLOGIA COMPARADA DE AVES MANTIDAS SOB CUIDADOS HUMANO**. XVI SEPA - Seminário Estudantil de Produção Acadêmica, UNIFACS, 2017. Disponível em: <http://www.revistas.unifacs.br/index.php/sepa>

POZZI, L. M.; BORBOROGLU, P. G.; BOERSMA, P. D.; PASCUAL, M. A. Population Regulation in *Magellanic Penguins*: What Determines Changes in Colony Size? **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. 1-16, 2015.

PUSTIGLIONE, M.; GOLDENSTEIN, E.; CHECINSKI, Y. M. Homeopatia: um breve panorama desta especialidade médica. **Revista de Homeopatia**, v. 80, n. 1, 2017.

PUSTIGLIONE, M. **Organon da arte de curar de Samuel Hahnemann para o século XXI**. 2 ed. São Paulo: Ed. Organon, 2018, 286 p.

RAYA, L. M.; VON ANCKEN, A. C. B.; COELHO, C. P. A história da ciência homeopática e a pesquisa no mundo e no Brasil. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.2, p. 14101-14122, 2021.

REAGAN, J. W.; ROVIRA, I. R. A.; DENICOLA, B.D.; Atlas de Hematologia Veterinária - Espécies domésticas e não domésticas comuns. 2. ed. REV – Thieme Revinter, 2011.

REYNERTSON, K. A.; GARAY, M.; NEBUS, J., CHON, S.; KAUR, S.; MAHMOOD, K.; KIZOULIS, M.; SOUTHALL, M. D. Anti-inflammatory activities of colloidal oatmeal

(*Avena sativa*) contribute to the effectiveness of oats in treatment of itch associated with dry, irritated skin. **Journal of drugs in dermatology**, v.14, n.1, p. 43–48, 2015.

RIBEIRO, J. D. **Estudo endócrino-comportamental da reprodução de pinguins-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) mantidos em cativeiro**. Tese de Doutorado – Universidade de São Paulo, 2017.

RODRIGUES, S. C.; ADORNES, A. C.; DOS SANTOS FILHO, E. A.; FILHO, R. P. S.; COLARES, E. P. Surviving probability indicators of landing juvenile magellanic penguins arriving along the southern Brazilian coast. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n.2, p. 419–424, 2010.

RODRIGUES *et al.* Metabolism of broilers subjected to different lairage times at the abattoir and its relationship with broiler meat quality. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.69, n.3, p.733-741, 2017.

RUOPPOLO, V. **Influência do ciclo da muda de penas nas respostas imune e inflamatória de pinguins-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) mantidos em cativeiro**. Tese de Doutorado – Universidade de São Paulo, 2016.

SAMOUR, J. *et al.* Age-related hematology and plasma chemistry changes in captive Masai ostriches (*Struthio camelus massaicus*). **Comp Clin Pathol**, v. 20, p. 659–667, 2011.

SCHIAVINI, A. *et al.* Los pingüinos de las costas argentinas: estado poblacional y conservación. **Hornero**, v. 20, n. 01, p. 05-23, 2005.

SCHMIDT, E. M. S. *et al.* Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade AVÍCOLA – REVISÃO. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, n. 3, p. 09-20, 2007.

SCHMIDT, E. M. S. Patologia Clínica em Aves. *In*: CUBAS Z.S., Silva J.C.R., CATÃO-DIAS J.L. **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, v. 2, p. 1577-1596, 2017.

SHARMA, V.; GELIN, L.; SARKAR, I. N. Identifying herbal adverse events from spontaneous reporting systems using taxonomic name resolution approach. **Bioinformatics and biology insights**. n. 14, p. 1-11, 2020.

SILVA-FILHO, R. P.; RUOPPOLO, V. Sphenisciformes (Pinguim). *In*: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Orgs.). **Tratado de Animais Selvagens Medicina Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Editora Roca, p. 384- 416, 2014.

SINGH, R.; DE, S.; BELKHEIR, A. *Avena sativa* (Oat), a potential nutraceutical and therapeutic agent: an overview. **Crit Rev Food Sci Nutr**; v. 53, n. 2, p. 126-44, 2013.

SOTO, F. R. *et al.* A randomized controlled trial of homeopathic treatment of weaned piglets in a commercial swine herd. **Homeopathy**, v. 97, n. 4, p. 202–205, 2008.

THRALL, M. A. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Philadelphia, Lippincott, Williams & Wilkins, p. 518, 2004.

THRALL, M. A. *et al.* **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2nd. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

TRATHAN P. N. *et al.* Pollution, habitat loss, fishing, and climate change as critical threats to penguins. **Conservation Biology**. v. 29, n.1, p. 31-41, 2015.

TRATHAN, P. N.; FORCADA. J.; MURPHY E. J. Environmental Forcing and Southern Ocean marine predator populations: effects of climate change and variability. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 362, p. 2351–2365, 2007.

TRAVIS, E. K. *et al.* Hematology, serum chemistry, and serology of galápagos penguins (*Spheniscus mendiculus*) in the galápagos islands, Ecuador. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 42, n.3, p. 625–632, 2006.

VALENTE, P. P.; MOREIRA, G. H.; SERAFINI, M. F.; FACURY-FILHO, E. J.; CARVALHO, A. Ú.; FARACO, A. A.; CASTILHO, R. O.; RIBEIRO, M. F. In vivo efficacy of a biotherapeutic and eugenol formulation against *Rhipicephalus microplus*. **Parasitology research**, v.116, n. 3, p. 929–938, 2017.

YORIO, P.; BORBOROGLU, P. G.; POTTI, J.; MORENO, J. Breeding biology of magellanic penguins *Spheniscus magellanicus* at Golfo San Jorge, Patagonia, Argentina. **Marine Ornithology**, Berlin, v. 29, p. 75-79, 2001.

WILLIAMS, T. D., BOERSMA, P.D., Magellanic penguins. *In: The Penguins* (Bird families of the world), ed. C.M. Perrins, W.J. Bock, J. Kikkawa. Oxford University Press, New York. 1995.

WILLIAMS, T. D. **Physiological adaptations for breeding in birds**. Princeton, NJ: Princeton University Press. Chapter 4: Egg Size and Egg Quality. p.100–153. 2012.

ANEXO A – Autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Santo Amaro



PARECER N.16.2/2020

Projeto de Pesquisa: "ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E COMPORTAMENTAIS DE PINGUINS (*SPHENISCUS MAGELLANICUS*) NA MUDA E NA REPRODUÇÃO E O USO DE ALTAS DILUIÇÕES"

Pesquisadores Responsáveis: Prof. Cideli de Paula Coelho
Franscinne Brait Narita

Curso: Medicina Veterinária

Prezado Pesquisador:

Ao se proceder à análise do processo em questão, coube a seguinte deliberação:

O Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais (**CEUA-UNISA**), seguindo as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo animais, conforme a Lei federal nº 11.794 (Lei Arouca), as resoluções do CONCEA, que estabelecem os procedimentos para o uso científico de animais no país e a Lei Estadual nº 11.977/05 que institui o Código de Proteção aos Animais do Estado de São Paulo, deliberando pela **Aprovação** do Projeto "ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E COMPORTAMENTAIS DE PINGUINS (*SPHENISCUS MAGELLANICUS*) NA MUDA E NA REPRODUÇÃO E O USO DE ALTAS DILUIÇÕES".

São Paulo, 07 de agosto de 2020.

PROFA. DRA. VALERIA CASTILHO ONOFRIO
Coordenadora do Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA
UNISA - Universidade Santo Amaro

ANEXO B - Autorização do SISBIO (Autorização para Atividades com Finalidade Científica do Ministério do Meio Ambiente)



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 75384-1	Data da Emissão: 05/06/2020 16:13:01	Data da Revalidação*: 05/06/2021
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Francinne Brait Narita	CPF: 372.705.608-89
Título do Projeto: ALTERAÇÕES HEMATOLOGICAS E COMPORTAMENTAIS DE PINGUINS (SPHENISCUS MAGELLANICUS) NA MUDA E NA REPRODUÇÃO E O USO DE ALTAS DILUIÇÕES.	
Nome da Instituição: Obras Sociais e Educacionais de Luz	CNPJ: 18.301.267/0001-84

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta, interpretação de exame, etograma.	08/2020	11/2021

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	CIDELI DE PAULA COELHO	Orientadora	192.270.368-06	Brasileira

Observações e ressalvas

1	O pesquisador somente poderá realizar atividade de campo após o término do estado de emergência devido à COVID-19, assim declarado por ato de autoridade competente.
2	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
3	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiarem a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
4	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
5	As atividades de campo exercidas por pessoas naturais ou jurídicas estrangeiras, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes de cultura nativa e cultura popular, presente e passado, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
6	O titular de licença ou autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
7	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possessor ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/gen .

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0753840120200605

Página 1/3



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 75384-1	Data da Emissão: 05/06/2020 16:13:01	Data da Revalidação*: 05/06/2021
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Francinne Brait Narita	CPF: 372.705.608-89
Título do Projeto: ALTERAÇÕES HEMATOLOGICAS E COMPORTAMENTAIS DE PINGUINS (SPHENISCUS MAGELLANICUS) NA MUDA E NA REPRODUÇÃO E O USO DE ALTAS DILUIÇÕES.	
Nome da Instituição: Obras Sociais e Educacionais de Luz	CNPJ: 18.301.267/0001-84

Outras ressalvas

1	O sangue coletado não deve ultrapassar o equivalente a 1% da massa corporal da ave. Em coletas consecutivas, não deve ultrapassar 2% a cada 14 dias. Não deve ser utilizada punção cardíaca para obtenção de amostra. Esta autorização refere-se apenas às atividades de pesquisa aqui previstas, não autorizando manejo de fauna silvestre não ameaçada, atribuição reservada ao Ibama ou ao órgão estadual de meio ambiente.	CEMAVE Cabedelo-PB
---	--	--------------------

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Sabina Escola Parque do Conhecimento	Santo André-SP	Marinho	Não	Fora de UC Federal

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Atividades ex-situ (fora da natureza)

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Spheniscus magellanicus	-

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Aves)	Sangue

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	Obras Sociais e Educacionais de Luz	Laboratório

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0753840120200605

Página 2/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 75384-1	Data da Emissão: 05/06/2020 16:13:01	Data da Revalidação*: 05/06/2021
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Francinne Brail Narita	CPF: 372.705.608-89
Título do Projeto: ALTERAÇÕES HEMATOLOGICAS E COMPORTAMENTAIS DE PINGUINS (SPHENISCUS MAGELLANICUS) NA MUDA E NA REPRODUÇÃO E O USO DE ALTAS DILUIÇÕES.	
Nome da Instituição: Obras Sociais e Educacionais de Luz	CNPJ: 18.301.267/0001-84

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

[illegible]

* Identificar o espécime do nível taxonômico possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0753840120200605

Página 3/3