

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Instituto de Biologia
Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal



Dissertação

Intervalos de Referência Hematológicos do Morcego *Tadarida brasiliensis*
(Molossidae, Chiroptera) no sul do Brasil

Paulo Quadros de Menezes

Pelotas, 2020

Paulo Quadros de Menezes

**Intervalos de Referência Hematológicos do Morcego *Tadarida brasiliensis*
(Molossidae, Chiroptera) no sul do Brasil**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Maria Rui

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M541i Menezes, Paulo Quadros de

Intervalos de referência hematológicos do morcego
Tadarida brasiliensis (Molossidae, Chiroptera) no sul do
Brasil / Paulo Quadros de Menezes ; Ana Maria Rui,
orientadora. — Pelotas, 2020.

84 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação
em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade
Federal de Pelotas, 2020.

1. Análises de sangue. 2. Fauna silvestre. 3.
Hemograma. 4. Leucometria. 5. Morceguinho-das-casas. I.
Rui, Ana Maria, orient. II. Título.

CDD : 599.40981657

Paulo Quadros de Menezes

Intervalos de Referência Hematológicos do Morcego *Tadarida brasiliensis*
(Molossidae, Chiroptera) no sul do Brasil

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Biologia Animal, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 15 de dezembro de 2020

Banca Examinadora:

Profª Drª Ana Maria Rui (Orientadora)
Doutora em Ecologia pela Universidade de Brasília

Profª Drª Ana Luisa Schifino Valente (Banca Examinadora)
Doutora em Medicina Veterinária pela Universidade Autônoma de Barcelona

Profª Drª Ana Paula Neuschrack Albano (Banca Examinadora)
Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Prof Dr José Eduardo Figueiredo Dornelles (Banca Examinadora - Suplente)
Doutor em Ciências pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Dedico este trabalho à Thassi, minha esposa com asas, e ao nosso filhote
garotudo, Dominick.**

Agradecimentos

À minha esposa, Thassi, por toda compreensão, diligência, incentivo e sobriedade. Somos juntos. Vamos juntos. Afinal de contas, sonhar não determina o lugar para o qual vamos: sonhar produz força intrínseca para tirar-nos do lugar. Te amo, pintassilga.

Ao meu filhote, por tudo. Seu aparecimento foi como se eu tivesse caído de cabeça para cima. Cada hora é hora de “carne boa”. Cada minuto é vínculo. Cada dia é dia de Dominick.

À professora Ana Rui, por me apresentar o fantástico mundo dos morcegos. Cada hora em cima de leituras, todas as palavras, todos os sermões. Obrigado por me incentivar à dúvida. Obrigado, professora.

À minha mãe, minha irmã e meu irmão. Se um dia tudo começou com fogo, não posso deixar de agradecer a quem acendeu a fagulha. Obrigado, canalhudos.

À Vovó Leda, dona de 95 anos e com um corpo vestido de histórias. Veja bem: agora é também minha avó!

Aos seis folgados de quatro patas: Coca, Pipoca, Quincas, Onça, Guinho e ao mais chato de toda nação felina, Theodoro. Talvez a minha responsabilidade como pai tenha iniciado com vocês. Por isso, agradeço em felinês.

À todas professoras e professores e servidores do PPG da Biologia Animal, por serem o maior espetáculo da Terra. A educação precisa resistir.

Aos meus colegas e amigos de mestrado, por todo acolhimento, pela troca e até pelo futebol de segunda-feira. Amigos são escolhidos pela pupila, e vocês têm bonitos olhos.

Resumo

DE MENEZES, Paulo Quadros. **Intervalos de Referência Hematológicos do Morcego *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) no sul do Brasil**. 2020. 84f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

Análises hematológicas e bioquímicas são importantes ferramentas na medicina humana e animal dando suporte para o diagnóstico de doenças e decisões sobre tratamentos. Essas análises também têm aplicações em decisões sobre manejo e conservação de espécies silvestres. Intervalos de Referência (IR) são intervalos de valores provenientes de indivíduos saudáveis e considerados normais para uma população ou espécie, que são usados na interpretação dos resultados das análises hematológicas e bioquímicas. O estabelecimento de IR para animais silvestres envolve uma série de dificuldades metodológicas e trabalhos com espécies de morcegos são raros. O objetivo do presente estudo é estabelecer pela primeira vez Intervalos de Referência para 12 parâmetros sanguíneos de uma espécie de Molossidae, *Tadarida brasiliensis*, um morcego insetívoro de ampla distribuição geográfica, abundante e sinantrópico. O estudo foi realizado com 139 indivíduos adultos saudáveis, incluindo machos e fêmeas, capturados em dois abrigos em construções durante 12 meses no sul do Rio Grande do Sul, extremo sul do Brasil. Os resultados indicam que *T. brasiliensis* apresenta ampla variação na contagem de hemácias, concentração de hemoglobina e hematócrito, com valores mais baixos dos limites inferiores dos IR quando comparado com espécies de outras famílias. Os IRs obtidos para VCM e CHCM seguem um padrão distinto apresentando pequena variação e valores baixos quando comparados a outras famílias. O IR para a contagem de plaquetas em *T. brasiliensis* foi amplo e com valores de limite superior bastante elevado. Os IR para proteínas totais foram pouco variáveis e baixos. *Tadarida brasiliensis* apresenta as células leucocitárias compostas por neutrófilos segmentados, linfócitos, eosinófilos e monócitos. Os IR para contagem de leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos e monócitos foram baixos e pouco variáveis e a contagem de eosinófilos é alta e variável. A razão entre neutrófilos segmentados e linfócitos é proporcional na espécie. Eosinófilos foram detectados em 75 (88,2%) dos 85 indivíduos analisados e monócitos foram detectados em 16 (18,6%) indivíduos dos 86 analisados. O estabelecimento dos IR para *T. brasiliensis* representa um passo inicial no estudo hematológico de espécies de Molossidae, com potencial na detecção de doenças precocemente, incluindo zoonoses, e no manejo e conservação.

Palavras-chave: análises de sangue; fauna silvestre; hemograma; leucometria; morceguinho-das-casas

Abstract

DE MENEZES, Paulo Quadros. **Hematological Reference Intervals of the Bat *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) in Southern Brazil.** 2020. 84f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

Hematological and biochemical analyzes are important tools in human and animal medicine, supporting the diagnosis of diseases and treatment decisions. These analyzes also have applications in decisions on the management and conservation of wild species. Reference intervals (RI) are ranges of values from healthy individuals and considered normal for a population or species, which are used to interpret the results of hematological and biochemical analyzes. The establishment of RI for wild animals involves a series of methodological difficulties and work with bat species is rare. The objective of the present study is to establish for the first time 12 hematological Reference Intervals of a species of Molossidae, *Tadarida brasiliensis*, an insectivorous bat with wide geographic distribution, abundant and synanthropic. The study was carried out with 139 healthy adult individuals, including males and females, captured in two shelters in buildings for 12 months in the south of Rio Grande do Sul, in the extreme south of Brazil. The results indicate that *T. brasiliensis* presents a wide variation in red blood cell count, hemoglobin concentration and hematocrit, with lower values of the lower limits of the RI when compared to species from other families. The IRs obtained for VCM and CHCM follow a different pattern with little variation and low values when compared to other families. The IR for platelet count in *T. brasiliensis* was broad and with very high upper limit values. The IR for total proteins was little variable and low. *Tadarida brasiliensis* presents leukocyte cells composed of segmented neutrophils, lymphocytes, eosinophils and monocytes. The RI for total leukocyte, neutrophil, lymphocyte and monocyte count were low and little variable and the eosinophil count is high and variable. The ratio between segmented neutrophils and lymphocytes is proportional in the species. Eosinophils were detected in 75 (88.2%) of the 85 individuals analyzed and monocytes were detected in 16 (18.6%) individuals of the 86 analyzed. The establishment of IR for *T. brasiliensis* represents an initial step in the hematological study of Molossidae species, with potential for early detection of diseases, including zoonoses, and in management and conservation.

Keywords: blood analysis; wildlife; blood count; leukometry; house's bat

Lista de Tabelas

Tabela 1	Estatística descritiva, Intervalos de Referência (RI) e Intervalos de Confiança (CI) de 12 parâmetros hematológicos do morcego <i>Tadarida brasiliensis</i> capturados entre abril de 2019 e março de 2020, no município de Capão do Leão (RS), extremo sul do Brasil.....	26
Tabela 2	Estatística descritiva da frequência (%) dos quatro tipos de leucócitos componentes do sangue de indivíduos de <i>Tadarida brasiliensis</i> capturados entre abril de 2019 e março de 2020, no município de Capão do Leão (RS), extremo sul do Brasil.....	27

Sumário

1 Introdução.....	9
2 Revisão Bibliográfica.....	12
2.1 Família Pteropodidae.....	12
2.2 Família Vespertilionidae.....	14
2.3 Família Phyllostomidae.....	16
2.4 Família Molossidae.....	18
2.5 Outras Famílias.....	10
3 Material e Métodos.....	21
3.1 Área de Estudo.....	21
3.2 Coleta de Amostras.....	22
3.3 Análise dos Dados.....	23
4 Resultados.....	25
5 Discussão.....	28
6 Considerações Finais.....	36
Referências.....	37
Apêndices.....	46

1 Introdução

Análises hematológicas e bioquímicas são importantes ferramentas na medicina humana e animal, dando suporte para o diagnóstico de doenças e decisões sobre tratamentos (FRIEDRICHS et al., 2012). A interpretação dos resultados destas análises é realizada por comparação e depende do estabelecimento de intervalos de valores considerados normais para uma população ou espécie (FRIEDRICHS et al., 2012; GEFFRE et al., 2009), os chamados Intervalos de Referência (IR). O Intervalo de Referência para um parâmetro compreende 95% dos valores centrais obtidos para uma população de referência, com seus Limites de Confiança (LC) inferiores e superiores de 90%. Por convenção, considera-se que os valores contidos no intervalo de referência de 95% incluem apenas animais saudáveis, que apresentam valores típicos (LUMSDEN; MULLEN, 1978).

Os Intervalos de Referência são específicos para cada espécie e podem variar influenciados por habitat, sexo, idade, estágio reprodutivo e situação nutricional do conjunto de indivíduos incluídos na amostra (FRIEDRICHS et al., 2012; GEFFRE et al., 2009). Desta forma, Intervalos de Referência já foram estabelecidos, por exemplo, para populações humanas de diferentes países ou regiões (SZWARCOWALD et al. 2019), diferentes idades (MAHLKNECHT; KAISER, 2010; LIU et al., 2012), diferentes idades e sexos (BIINO et al., 2013) e estágios reprodutivos, por exemplo, para mulheres grávidas (KAUR et al., 2014). Também já foram realizados muitos estudos estabelecendo Intervalos de Referência para espécies de animais domésticos criados para consumo humano, como bovinos (GEORGE et al., 2010) e peixes (FAZIO, 2019); espécies criadas como animais de estimação domiciliados, como cães (NIELSEN et al. 2010), e gatos ferais (SPADA et al., 2016); e animais de laboratório, como espécies de roedores (HE et al., 2017) e cães da raça Beagle (BOURGÈS-ABELLA et al., 2015). Os esforços para o estabelecimento de Intervalos de Referência de espécies de animais silvestres vêm crescendo e há estudos disponíveis para espécies de grupos taxonômicos tão diversos quanto anfíbios (RUIZ et al., 1987), répteis (HIDALGO-VILA et al., 2007) e mamíferos (GRAESLI et al., 2014).

As aplicações do estabelecimento de Intervalos de Referência hematológicos e bioquímicos em animais silvestres são bastante diversas e vão além do diagnóstico e tratamento de doenças em nível individual. Esses estudos podem ser utilizados para avaliação de estresse e condição de saúde durante programas de resgate e translocação de fauna em áreas de empreendimentos, como o realizado com bugios (*Alouatta caraya*) no Brasil (SÁNCHEZ-SARMIENTO et al., 2014); no entendimento de como indivíduos são afetados pela qualidade de habitat e estrutura da paisagem, como no trabalho realizado com lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) também no Brasil (MAY-JÚNIOR et al., 2009); e na comparação de Intervalos de Referência previamente estabelecidos com análises obtidas de indivíduos de populações afetadas por impactos ambientais, como no trabalho com tartarugas marinhas afetadas por derramamento de óleo cru (STACY et al., 2017).

Os morcegos são uma importante ordem de mamíferos devido a sua ampla distribuição geográfica, grande número de espécies e abundância e prestação de serviços ecossistêmicos como polinização, dispersão de sementes e controle de populações de insetos (FENTON; RATCLIFFE, 2010). Além disso, os morcegos são importantes reservatórios de cerca de 200 diferentes tipos de vírus, incluindo o vírus da raiva (CALISHER et al., 2006; MORATELLI; CALISHER, 2015) e bactérias potencialmente patogênicas (CLAUDIO et al., 2018). Desta forma, a avaliação da saúde de indivíduos e o monitoramento de populações são essenciais e podem auxiliar na conservação e manejo de populações e espécies e na detecção e controle de zoonoses de uma forma rápida e precoce. O estabelecimento de Intervalos de Referência é um importante passo nesse sentido, porém, são raros os trabalhos que estabelecem Intervalos de Referência para espécies de morcegos utilizando número suficiente de indivíduos e aplicando métodos de análise estatística adequados. Praticamente, todos os estudos determinando Intervalos de Referência hematológicos foram realizados com espécies de raposas voadoras, da família Pteropodidae, incluindo os estudos com indivíduos de vida livre de *Pteropus giganteus* na Índia (MCLAUGHLIN et al., 2007), *P. alecto* (MCMICHAEL et al., 2015), *P. poliocephalus* (EDSON et al., 2018) e *P. conspicillatus* (MCMICHAEL et al., 2019) todos na Austrália e com *Eidolon helvum* em cativeiro (SELIG et al., 2016). Uma série de estudos hematológicos foram realizados com outros objetivos, como por exemplo, a avaliação de adaptações e variações temporais nos parâmetros sanguíneos de espécies que hibernam, principalmente da família Vespertilionidae, como *Eptesicus nilssonii* na

Rússia (KIZHINA et al., 2018) e *Myotis myotis* na República Checa (BANDOUCHOVA et al., 2020). Além disso, estudos hematológicos têm aplicação na avaliação da saúde de espécies ameaçadas de extinção, como é o caso de *Miniopterus oriaebassanii* (Miniopteridae) no sul da Austrália (HOLZ et al., 2020).

Os Molossidae são uma família de morcegos insetívoros com distribuição global e com grande número de espécies (SIMMONS, 2005), havendo alguns esforços no sentido de determinar parâmetros hematológicos em condições específicas, porém, nenhum trabalho estabelecendo Intervalos de Referência para suas espécies está disponível na literatura. Villalba-Alemán e Muñoz-Romo (2016) compilaram os dados hematológicos disponíveis para 12 espécies de molossídeos, com informações baseadas em poucos indivíduos e sem análise adequada. O foco do presente estudo é estabelecer pela primeira vez o Intervalo de Referência de uma espécie de Molossidae, *Tadarida brasiliensis*, um morcego insetívoro envolvido no controle de populações de insetos, incluindo importantes pragas agrícolas (CLEVELAND et al., 2006). *Tadarida brasiliensis* está distribuído desde o sul dos Estados Unidos, por toda a América Central, oeste da América do Sul, sudeste e sul do Brasil até o sul da Argentina e Chile (cerca de 45°S) (SIMMONS, 2005). No México e Estados Unidos, a espécie forma grandes colônias em cavernas e construções, como pontes, e realiza deslocamentos sazonais (WIEDERHOLT et al., 2014). No sul da América do Sul, a espécie é abundante e também pode formar grandes colônias, porém, todos os principais registros conhecidos indicam que seja altamente dependente de construções humanas de diferentes tipos (FABIÁN; MARQUES, 1996; MOSA, 2014; BOTTO NUÑEZ et al., 2018), o que potencialmente gera conflitos com humanos. A espécie é candidata a ações de conservação e, em alguns casos específicos, manejo de suas colônias em construções devido a sua ampla distribuição geográfica, abundância, papel no controle de populações de insetos e oportunismo na escolha de abrigos em construções. O estabelecimento dos Intervalos de Referência para seus parâmetros hematológicos pode dar suporte para o monitoramento da saúde de suas populações e auxiliar na tomada de decisões sobre ações de manejo e conservação.

O objetivo do presente trabalho foi estabelecer os Intervalos de Referência (IR) para 12 parâmetros hematológicos de uma população de *Tadarida brasiliensis* do extremo sul do Brasil.

2 Revisão Bibliográfica

A informação básica sobre perfis hematológicos de morcegos é muito limitada e dispersa. Alguns estudos hematológicos incluindo várias espécies já foram realizados. Até o ano de 2016 havia informações disponíveis para 81 espécies, o que representa apenas 7,3% das espécies de morcegos, e para cerca de nove das 18 famílias de morcegos reconhecidas. As famílias para as quais estão disponíveis mais informações hematológicas são a Phyllostomidae, com dados para 29 espécies, e a Vespertilionidae, com dados para 25 espécies (VILLALBA-ALEMÁN e MUNOZ-ROMO, 2016).

Na Região Neotropical, Valdivieso e Tamsitt (1971) forneceram perfis hematológicos para várias espécies de morcegos da Colômbia e Porto Rico. Já Schinnerl et al. (2011) estudaram os valores hematológicos, como hematócrito, leucócitos totais e diferenciais, de 255 morcegos representados por 26 espécies das famílias Phyllostomidae, Emballonuridae, Molossidae e Vespertilionidae capturados em uma Floresta Tropical da Costa Rica.

Apesar de estarem disponíveis informações hematológicas para diversas espécies, estudos hematológicos com estabelecimento de Intervalos de Referência em morcegos com número suficiente de indivíduos e análises estatísticas adequadas conforme recomendações da American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP) (ASVCP; FRIEDRICHS et al., 2012) são escassos. A seguir é apresentada uma revisão de literatura sobre os estudos hematológicos realizados em diferentes famílias.

2.1 Família Pteropodidae

A família Pteropodidae é a que inclui um maior número de estudos hematológicos realizados com estabelecimento de Intervalos de Referência tanto com exemplares mantidos em cativeiro, quanto de vida livre, fato que pode ser explicado pela necessidade de tratamento veterinário para indivíduos dessas espécies que frequentemente são levadas a hospitais e centros de reabilitação. Para espécies da

família Pteropodidae, existem dados hematológicos médios para hematócrito de 51%, hemácias em $10 \times 10^6/\mu\text{l}$, contagem de leucócitos totais em 10.000 células/ μl , hemoglobina em 16g/dl e contagem diferencial de leucócitos com neutrófilos em 58%, linfócitos em 40%, monócitos 2%, eosinófilos 1% e basófilos 0% (VILLALBA-ALEMÁN; MUNOZ-ROMO, 2016).

McLaughlin et al. (2007) realizaram um estudo com morcegos *Pteropus giganteus* de vida livre no norte da Índia. O objetivo do estudo foi determinar os valores hematológicos e bioquímicos para a espécie. Os resultados do estudo apresentaram valores de referência para subadultos e adultos machos e fêmeas, com destaque para a variação observada nos valores médios de linfócitos, cujos animais jovens tiveram média maior do que a encontrada para os morcegos adultos.

McMichael et al. (2015) estudaram morcegos *Pteropus alecto* de vida livre capturados no Sudeste de Queensland, Austrália. Foram capturados 447 animais, incluindo subadultos, machos e fêmeas adultos, ao longo de 12 meses, com o objetivo de estabelecer Intervalos de Referência hematológicos para a espécie. Os resultados apresentados mostraram baixo número de linfócitos, monócitos e eosinófilos para fêmeas em lactação em comparação a estudos hematológicos disponíveis para Pteropodidae e nenhuma diferença significativa nos valores hematimétricos entre machos e fêmeas.

Selig et al. (2016) estudaram morcegos frugívoros *Eidolon helvum*, mantidos em cativeiro, no Cleveland Metroparks Zoo. O objetivo do estudo foi estabelecer os Intervalos de Referência, sendo que a metodologia que determinou os Intervalos de Referência foi realizada usando métodos recomendados pela American Society for Veterinary e pelo Laboratory Standards Committee. O estudo apresentou Intervalos de Referência para os parâmetros hematológicos semelhantes aos valores vistos anteriormente em outras espécies de morcegos Pteropodidae, embora com intervalo de referência para leucócitos totais menor que o esperado.

Edson et al. (2018) realizaram um estudo com morcegos *Pteropus poliocephalus* de vida livre, em North Queensland, Austrália. O estudo teve o objetivo de estabelecer os valores de referência hematológicos para a espécie e analisar as possíveis variações entre fêmeas e machos adultos e subadultos. Os resultados mostraram que *P. poliocephalus* fêmeas apresentaram médias para leucócitos, linfócitos e monócitos mais elevadas que *P. poliocephalus* machos. Enquanto que

machos e fêmeas adultos apresentaram média para hemoglobina e VCM maior que os subadultos.

Ekeolu e Adebisi (2018) estudaram morcegos *Epomops franqueti* de vida livre. Para tal, foram capturados 17 morcegos adultos saudáveis, incluindo machos e fêmeas, de uma colônia localizada na Nigéria. O objetivo do estudo foi investigar possíveis variações hematológicas entre morcegos machos e fêmeas. Os resultados do estudo não apresentaram variações estatisticamente significativas para os valores de hemoglobina, hematócrito, VCM, CHCM, hemácias, de leucócitos totais, linfócitos, eosinófilos, monócitos e neutrófilos.

McMichael et al. (2019) estudaram morcegos *Pteropus conspicillatus* de vida livre, em Far North Queensland, Austrália. O objetivo do trabalho foi estabelecer Intervalos de Referência hematológicos para a espécie e compará-los aos valores hematológicos encontrados para *Pteropus alecto* (MCMICHAEL et. al., 2015). Os resultados obtidos demonstram que há diferenças na contagem de hemácias e leucócitos diferenciais entre *P. conspicillatus* e *P. alecto*.

Moretti et al. (2020) estudaram o morcego frugívoro *Rousettus aegyptiacus* mantidos em cativeiro. O objetivo desse estudo foi estabelecer os Intervalos de Referência dos valores hematimétricos e leucocitários para a espécie. Os resultados apresentados no estudo mostraram Intervalos de Referência para hematócrito, hemoglobina, leucócitos totais e linfócitos com valores menores que outros morcegos Pteropodidae com dados disponíveis.

2.2 Família Vespertilionidae

No que se refere a família Vespertilionidae, estudos com algumas espécies já foram realizados, principalmente na Europa. Esses estudos geralmente focam nas variações hematológicas de espécies que hibernam, avaliando especialmente leucócitos e suas consequências imunológicas. Não há nenhum estudo disponível com estabelecimento de Intervalos de Referência hematológicos para a família. Villalba-alemán e Munoz-Romo (2016), com base nos dados disponíveis para 24 espécies da família, calcularam os valores médios de hematócrito de 54%, hemácias $13 \times 10^6/\mu\text{l}$, contagem de leucócitos totais se aproximando de 4.900 células/ μl , hemoglobina 15g/dl e contagem diferencial de leucócitos com neutrófilos 44%, linfócitos a 50%, monócitos a 3%, eosinófilos a 2% e basófilos a 1%.

Wolk e Bogdanowicz (1987) conduziram um estudo com *Myotis daubentonii*, em hibernação, em Miedzyrzeczki, região oeste da Polônia. O objetivo do estudo foi estabelecer de valores hematológicos para a espécie no período em que estavam hibernando. Os resultados mostraram que os parâmetros hematológicos dos morcegos machos e fêmeas diferiram no que diz respeito às hemácias, com maior número de células menores encontradas em machos. Já os valores obtidos para hemoglobina e hematócrito foram semelhantes em ambos os sexos.

Kovalchuk et al. (2017) estudaram populações de vida livre de *Myotis dasycneme*, nos Montes Urais, Rússia. O estudo analisou 40 amostras de sangue de adultos, machos e fêmeas e subadultos com o objetivo de determinar os valores hematológicos para espécie. As análises revelaram algumas mudanças nos parâmetros hematológicos em morcegos capturados no outono, pouco tempo antes do período de hibernação, além de diferenças nas principais variáveis hematimétricas entre machos e fêmeas adultos de *M. dasycneme*, com exceção para hemoglobina. O estudo também indicou que o número de hemácias e o nível de hemoglobina aumentam conforme aumenta a idade do morcego, embora os valores de leucócitos permaneçam relativamente estáveis, destacando a capacidade de resposta adaptativa hematológica dos morcegos frente à sazonalidade climática.

Kizhina et al. (2018) realizaram um estudo com a espécie *Eptesicus nilssonii* de vida livre, durante a hibernação, no noroeste da Rússia. O objetivo do estudo foi analisar as variações hematológicas para a espécie no início do período de hibernação (final do outono), meio do período (inverno) e final da hibernação (início da primavera). O estudo revelou alterações de vários parâmetros hematológicos durante a estação de hibernação. *Eptesicus nilssonii* possui valores médios considerados baixos e com pouca variação para hemoglobina, hemácias e leucócitos totais e diferenciais no período de hibernação. Enquanto que no começo da primavera foi observado valores médios mais altos para linfócitos, neutrófilos e basófilos.

Uzenbaeva et al. (2018) realizaram estudo com cinco espécies de morcegos Vespertilionidae em hibernação, na Rússia. O objetivo do trabalho foi estudar a composição e morfologia das células do sangue periférico durante o período de hibernação. O estudo foi realizado com 60 indivíduos pertencentes a três gêneros, sendo 10 espécimes de *Myotis daubentonii* (seis fêmeas e quatro machos), cinco de *Myotis mystacinus* (três fêmeas e dois machos), 13 *Myotis brandtii* (sete fêmeas e seis machos), 25 *Eptesicus nilssonii* (18 fêmeas e sete machos) e sete *Plecotus auritus*

(seis fêmeas e um macho). Os resultados mostraram que essas espécies possuem um baixo nível de leucócitos, com prevalência de neutrófilos sobre linfócitos. Os valores baixos de leucócitos podem ter relação com o período de hibernação, uma vez que nesse período essas células migram para as paredes dos vasos e órgão linfóides, diminuindo suas concentrações plasmáticas.

Ruoss et al. (2019) estudaram populações de vida livre de *Myotis daubentonii*, na Alemanha. O objetivo do estudo foi avaliar o padrão leucocitário e sua interferência nas variações imunológicas em distintos estágios reprodutivos das fêmeas e machos adultos da espécie. Amostras de sangue de machos e fêmeas de *M. daubentonii* foram colhidas em diferentes estados reprodutivos para avaliação leucocitária associadas às análises sorológicas pertinentes. Foi observado diferenças nos valores leucocitários em fêmeas grávidas e lactantes, da mesma maneira que em machos em período reprodutivo.

Bandouchova et al. (2020) estudaram populações de vida livre do morcego hibernante *Myotis myotis* em seis localidades da República Tcheca. O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos que a sazonalidade climática tem sobre os valores de hematócrito e hemoglobina. No geral, a espécie apresentou valores altos de hematócrito e hemoglobina no início do inverno em relação aos dados disponíveis para morcegos da mesma família.

Holtz et al. (2020) estudaram o morcego insetívoro *Miniopterus orianae bassanii* em Naracoorte Caves National Park, no sul da Austrália. O objetivo do estudo foi estabelecer valores hematológicos para a espécie, entender como os componentes podem indicar seu status de saúde e, ainda, comparar os dados com valores obtidos para algumas espécies de morcegos da mesma família, como *Miniopterus schreibersii*. *Miniopterus orianae bassanii* têm valores médios mais baixos para leucócitos totais e neutrófilos e apresenta média mais alta para linfócitos, monócitos e eosinófilos que *M. schreibersii*.

2.3 Família Phyllostomidae

A família Phyllostomidae inclui grande número de espécies, algumas são muito abundantes e ocupam diferentes nichos ecológicos. Alguns estudos hematológicos já foram realizados com essa família, geralmente buscando obter os valores de referência para espécies em cativeiro ou vida livre, além de obtenção de valores

hematológicos para estudos epidemiológicos e biomédicos, como em *Desmodus Rotundus*, já que essa espécie possui papel importante no ciclo do vírus da raiva (ALMEIDA et al., 2014).

Há dados hematológicos para 45 espécies da família e os valores médios para hematócrito são de 52%, hemácias são de $8 \times 10^6/\mu\text{l}$, enquanto a contagem de leucócitos totais se aproxima de 5.500 células/ μl e a hemoglobina é de 16 g/dl. A contagem diferencial de leucócitos atinge tipicamente valores de 43% de neutrófilos, 51% de linfócitos, 2% de monócitos, 3% de eosinófilos e 1% de basófilos (VILLALBA-ALEMÁN; MUNOZ-ROMO, 2016).

Santos et al. (2007), realizaram um estudo com a espécie de morcego hematófago *D. rotundus* capturada em três localidades diferentes do Rio Grande do Sul, sul do Brasil. O trabalho teve o objetivo de estabelecer os valores de referência hematimétricos e leucocitários para a espécie. Os resultados das análises mostraram valores de referência para hematócrito similares a outros trabalhos com valores hematológicos disponíveis para Phyllostomidae.

Antunes et al. (2013) conduziram um estudo com *Artibeus lituratus*, *Carollia perspicillata* e *Sturnira lilium*, em vida livre, em áreas fragmentadas de Mata Atlântica situadas no nordeste do estado do Paraná. O objetivo do trabalho foi obter os valores de referência hematológicos para as espécies e suas variações ao longo das estações. O estudo apresentou valores médios de hemoglobina e hematócrito maiores no inverno em relação ao verão para todas as espécies capturadas, com machos tendo uma média para hemoglobina e hematócrito maior do que as fêmeas.

Almeida et al. (2014) fizeram um estudo com a espécie *D. rotundus*, na cidade de São Paulo. O objetivo do trabalho foi analisar o perfil hematológico da espécie antes e após infecção experimental com vírus da raiva para posterior estabelecimento de valores de referência hematológicos. Para isso, 68 amostras de sangue foram coletadas antes da infecção experimental e 28 coletadas no dia 33 após a infecção experimental. Os resultados apresentaram valores para hemácias e leucócitos totais antes das infecções experimentais foram $9,97 \times 10^6 \text{mm}^3$ e $4,80 \times 10^3 \text{mm}^3$, respectivamente. Os neutrófilos representaram 69,9% dos leucócitos e os linfócitos 26,9%. Após as infecções experimentais, a contagem de hemácias e leucócitos totais foi de $9,43 \times 10^6 \text{mm}^3$ e $3,98 \times 10^3 \text{mm}^3$, respectivamente. Os neutrófilos representaram 40% das células brancas do sangue e os linfócitos representaram 59%.

Kuzel et al. (2020) realizaram um estudo com o morcego frugívoro *Artibeus lituratus* coletados em uma floresta urbana na cidade do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil. O objetivo do estudo foi obter os Intervalos de Referência hematológicos para a espécie. Foram capturados morcegos machos em atividade reprodutiva e fora do período reprodutivo e fêmeas grávidas, lactantes, pós lactantes e inativas. Os resultados apresentaram valores médios maiores para hemácias, hematócrito, eosinófilos, monócitos, neutrófilos e basófilos quando comparados a estudos disponíveis com morcegos da mesma família, além dos indivíduos machos apresentarem valores médios significativamente maiores para hematócrito, basófilos e hemácias quando comparados aos valores obtidos para fêmeas.

Strumpf et al. (2020) realizaram um estudo com morcegos frugívoros *Artibeus jamaicensis* em cativeiro. O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos do sedativo Isoflurano nos valores hematológicos da espécie. Para isso, o estudo apresentou valores hematológicos de referência para *A. jamaicensis* física e quimicamente contidos, abrindo um comparativo entre os dois grupos. Os resultados indicaram aumento significativo na contagem de leucócitos, linfócitos e monócitos nos morcegos anestesiados. Contudo, os parâmetros de hemácias e plaquetas não diferiram significativamente entre os dois grupos de morcegos estudados.

2.4 Família Molossidae

Poucos estudos hematológicos foram realizados com morcegos da família Molossidae, com número muito pequeno de indivíduos e sem o estabelecimento de Intervalos de Referência para as espécies (SCHINNERL et al., 2011, VILLALBA-ALEMÁ; MUÑOZ-ROMO, 2016). Para a família Molossidae somente se realizaram avaliações hematológicas para as seguintes 12 espécies: *Cheiromeles torquatus*, *Molossops temminckii*, *Molossus bondae*, *M. molossus*, *M. sinaloae*, *Otomops martiensseni*, *Tadarida aegyptiaca*, *T. brasiliensis*, *T. brasiliensis mexicana* e *T. mops*. Para estas espécies, foram obtidos os seguintes dados hematológicos: 59% de hematócrito, hemácias de $12 \times 10^6/\mu\text{l}$, a contagem de leucócitos em aproximadamente 1.800 células/ μl e hemoglobina de 19g/dl. A contagem diferencial de leucócitos alcança valores de 51% de neutrófilos, 44% de linfócitos, 3% de monócitos, 2% de eosinófilos e 2% de basófilos.

Krutzsh e Hughes (1959) estudaram a espécie *Tadarida brasiliensis mexicana*, no Condado de Blanco, Texas. O objetivo do estudo foi estudar o efeito do torpor na dimensão do baço e composição do sangue da espécie. Os resultados mostraram que o baço dos morcegos parece maior no período de torpor, e que ele retorna às suas dimensões normais rapidamente quando os morcegos são transferidos do ambiente frio para o quente. Também foi observado uma redução na contagem de hemácias do sangue periférico nos morcegos em estado de torpor.

Valdivieso e Tamsitt (1971) estudaram na Colômbia, Porto Rico e nas Ilhas Virgens três espécies de morcegos em vida livre, pertencentes a duas famílias, incluindo o Molossidae insetívoro *T. brasiliensis*. O objetivo do estudo foi obter os valores hematológicos para as espécies. Os resultados mostraram que *T. brasiliensis* apresentaram contagem de leucócitos mais baixa do que as outras espécies. Não houve diferenças significativas para os valores de hemoglobina, hematócritos e leucócitos diferenciais em fêmeas lactantes, grávidas ou inativas.

Rodríguez-Durán e Padilha-Rodríguez (2008) realizaram estudo com 12 indivíduos em vida livre de *T. brasiliensis*, em Porto Rico. O objetivo do estudo foi relacionar massa cardíaca, morfologia das asas e características hematológicas dos morcegos. Os resultados mostraram que a massa cardíaca e o hematócrito estavam significativamente correlacionados com a morfologia das asas da espécie estudada.

2.5 Outras Famílias

Outras famílias de morcegos contam com um número escasso de estudos hematológicos, realizados com poucos indivíduos de vida livre e sem estabelecimento dos Intervalos de Referência para as espécies. Para a família Emballonuridae existem dados hematológicos para somente quatro espécies com valores médios de 58% para hematócrito, $9 \times 10^6/\mu\text{l}$ para hemácias e 4.000 células/ μl para a contagem de leucócitos totais. O valor de hemoglobina é registrado apenas para a espécie *Taphozous melanopogon* a 16g /dl. Os parâmetros de contagem diferencial de leucócitos são 36% para neutrófilos, 62% para linfócitos, 2% para eosinófilos e 0% para monócitos e basófilos. As espécies Emballonuridae com dados disponíveis são *Cormura brevirostris*, *Rhynchonycteris naso*, *Saccopteryx bilineata* e *Taphozous melanopogon* (VILLALBA-ALEMÁN; MUNOZ-ROMO, 2016).

Thengare et al. (2015), em estudo realizado em 2014, compararam os valores hematológicos de indivíduos machos adultos e fêmeas lactantes de vida livre do morcego *Taphous kachhensis*. Os resultados apresentados mostraram que os valores médios para hemoglobina, hematócrito, CHCM e hemácias foram um pouco menores em fêmeas lactantes quando comparados com os valores hematimétricos de machos adultos. No entanto, a média apresentada para VCM, plaquetas e leucócitos totais foram menores em machos adultos. A contagem diferencial de leucócitos revelou valores médios baixos para eosinófilos e monócitos para ambos os sexos com basófilos não sendo observados em nenhuma das amostras.

Por sua vez, *Mormoops blainvillei*, *Pteronotus gymnonotus* e *Pteronotus quadridens*, três espécies da família Mormoopidae, apresentam valores de hematócrito próximo a 60%. Em relação aos outros parâmetros hematológicos, apenas para *P. gymnonotus* os dados são relatados para contagem de leucócitos totais em 1.300 células/ μ l e contagem diferencial de leucócitos com neutrófilos em 24%, linfócitos em 71%, eosinófilos em 3% e monócitos e basófilos em 1% (VILLALBA-ALEMÁN; MUNOZ-ROMO, 2016).

Na família Noctilionidae, os valores hematológicos conhecidos são apenas para *Noctilio leporinus*, uma das duas espécies que compõem a família e os dados disponíveis são 49% para hematócrito e contagem diferencial de leucócitos com neutrófilos em 36%, linfócitos 62%, monócitos 1%, eosinófilos 2% e basófilos 0% (VILLALBA-ALEMÁN; MUNOZ-ROMO, 2016). Por outro lado, para a família Hipposideridae, apenas um estudo hematológico foi relatado para a espécie *Hipposideros lankadiva*. Os dados hematológicos são de 59% para hematócrito, 9×10^6 / μ l hemácias, 9.500 células/ μ l para leucócitos totais e contagem diferencial de leucócitos com neutrófilos em 47%, linfócitos em 50%, eosinófilos em 1%, monócitos e basófilos em 0% (VILLALBA-ALEMÁN; MUNOZ-ROMO, 2016).

Por fim, para a família Rhinolophidae, a hematologia foi estudada apenas em *Rhinolophus ferrumequinum*, com valores de 63% para hematócrito, 12×10^6 / μ l para hemácias e 19g/dl para hemoglobina (VILLALBA-ALEMÁN; MUNOZ-ROMO, 2016).

3 Material e Métodos

3.1 Área de Estudo

O trabalho foi realizado no município do Capão do Leão, sul da Planície Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil. A área de estudo está situada no Bioma Pampa, na fitofisionomia das Formações Pioneiras (IBGE, 2010) e pode ser descrita como um mosaico que inclui campos nativos, pastagens, banhados, fragmentos de Mata de Restinga e plantações de arroz e eucaliptos. O clima da região é classificado como Temperado, Mesotérmico Brando Superúmido e sem seca (IBGE, 1997), com temperatura média variando entre 9°C e 16 no inverno e 24 e 33°C no verão.

Segundo a Estação Agroclimatológica de Pelotas (Capão do Leão), de 1971 a 2000, as temperaturas médias das estações estiveram entre 22,9°C no verão, 16,4°C no outono, 13,2°C no inverno e 19,0°C na primavera. Quanto à precipitação na região do município, as médias da mesma época foram 333,5mm no verão, 289,7mm no outono, 356,3mm no inverno e de 286,1mm na primavera. No ano de nosso estudo (2019-2020), as temperaturas médias das estações foram de 29,8°C no verão, 17,1°C no outono, 12,8°C no inverno e 12,8°C e 21,7°C primavera; ao passo que a precipitação no município foi em média 377,5mm no verão, 230,0mm no outono, 380,8mm no inverno e de 235,9mm na primavera.

Foram estudadas duas colônias de *T. brasiliensis*, sendo uma delas no sótão do prédio do Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre e Centro de Triagem de Animais Silvestres (NURFS/CETAS) (31.80°S 52.41°W), no Campus Capão do Leão da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), município de Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil. A construção é de alvenaria, térreo, com laje de concreto sem alçapão ou acesso ao sótão que é revestido por telhado de fibrocimento. O abrigo no qual a colônia está possui fendas na junção da parede com às telhas pelas quais os indivíduos fazem o acesso. A colônia permanece no abrigo durante todo o ano, havendo variações sazonais no número de indivíduos (FRANCO, 2011). A segunda colônia estava alojada em fendas no terceiro andar de um prédio em construção, entre

colunas de concreto (31.80°S 52.42°W), também localizado no Campus Capão do Leão (UFPEl).

3.2 Coleta de amostras

Um total de 139 indivíduos adultos da espécie *T. brasiliensis* incluindo espécimes das duas colônias foi capturado com auxílio de redes de neblina (*mist nets*) ou armadilhas de harpa (*harp trap*) (KUNZ; KURTA, 1988) (Apêndice N). As capturas foram mensais e tiveram início em abril de 2019, estendendo-se até março de 2020, totalizando 12 meses de estudo, contemplando as quatro estações do ano e ocorreram no crepúsculo, considerando o hábito de forrageamento da espécie.

Os animais capturados foram contidos fisicamente e avaliados através da observação de mucosas, grau de atividade, cobertura pilosa, escore corporal, presença de ectoparasitas e sujidades. Além disso, foram sexados, pesados (Pesola de 20g com 0,2g de precisão) e o comprimento do antebraço mensurado por paquímetro digital com precisão de 0,01mm. Procedida a coleta de dados e do sangue, os indivíduos capturados foram reavaliados e soltos no mesmo local de captura.

As amostras de sangue foram inicialmente colhidas pelas veias braquial ou cefálica (propatagial) conforme recomendado por Racey et. al. (2011). No entanto, não é incomum que a colheita de sangue por esses vasos seja acompanhada de hematomas (SMITH et al., 2010). Portanto, optou-se, *a posteriori*, pela colheita através da veia femoral, junto ao trígono femoral, com o morcego contido em decúbito dorsal sobre uma superfície plana, com a abdução do membro pélvico e exposição da face medial da coxa. A punção foi feita utilizando-se seringas de insulina de 100UI preparadas com etilenodiamino tetra-acético (EDTA), na dosagem de 0,02ml de EDTA para 0,1ml de sangue, em ângulo de 45°, com aproximadamente 1/3 da agulha introduzida no tecido cutâneo e adjacentes, para posterior acondicionamento em tubos Eppendorfs® sem anticoagulante.

A quantidade de sangue colhido foi de até 1% do peso corporal do espécime capturado, evitando debilitá-lo ou prejudicar sua capacidade de voo (JAIN, 1993). As amostras foram armazenadas em geladeira (4°C) por 12 horas (BAPTISTA et. al., 2006) para posterior transporte e análise imediata no laboratório.

Foram avaliados sete parâmetros hematológicos: hemácias ($\times 10^6$), leucócitos totais (μl), teor de hemoglobina (g/dl), hematócrito (%), volume corpuscular médio (VCM) (fl), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (%) e contagem plaquetária ($\times 10^3$). A contagem das células foi realizada em automação hematológica veterinária pocH – 100iV Diff®. A contagem diferencial leucocitária foi analisada através de microscopia óptica em esfregaço sanguíneo corado com o kit Panótico Rápido® (THRALL et al., 2004). O valor das proteínas plasmáticas totais foi obtido do plasma em aparelho refratômetro analógico RHO-90 Brix®, após centrifugação da amostra em tubo capilar (THRALL et al., 2015). A análise laboratorial foi realizada no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária do Hospital Veterinário (HCV) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

3.3 Análise dos dados

A determinação dos Intervalos de Referência (RI) e dos Intervalos de Confiança (CI) foi realizada com a utilização de métodos recomendados pela American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP) (ASVCP; FRIEDRICHS et al., 2012). As análises foram realizadas no programa estatístico Reference Value Advisor v.2.1 no ambiente Microsoft Excel 2010 for Windows (GÉFFRE et al., 2009).

Os valores dos doze parâmetros hematológicos estudados foram analisados quanto a estatística descritiva e foram calculadas as médias e seus desvios padrões, medianas e valores máximos e mínimos. Foram construídos histogramas e gráficos QQ para inspeção visual da distribuição dos dados e verificação de normalidade. A existência de normalidade nos dados foi verificada com o teste de Anderson-Darling e foi realizado teste de simetria para o conjunto de dados brutos e para os dados transformados. Para os testes de normalidade e simetria foi utilizado o p valor de $\leq 0,05$. O teste de Dixon e Tukey foram utilizados para a detecção de *outliers* e o de Tukey para a localização de valores suspeitos. O menor número possível de valores discrepantes foi retirado, somente quando a análise era distorcida pela sua presença e havendo a possibilidade de o indivíduo estar com o parâmetro sanguíneo alterado.

Com o programa Reference Value Advisor foram calculados os Intervalos de Referência (RI) e os Intervalos de Confiança (CI) através de cinco diferentes métodos, com os dados brutos através do método padrão e robusto, com os dados não normais transformados através do método padrão e robusto e através do método não

paramétrico. A transformação dos dados não normais é realizada automaticamente pelo programa pelo método de Box-Cox. A seleção dos Intervalos de Referência (IR) e dos Intervalos de Confiança (IC) mais adequados foi realizada com base no tamanho das amostras disponíveis e na distribuição dos dados (FRIEDRICHS et al., 2012), na comparação com os dados brutos e nos limites de IR e IC. O método Standard foi utilizado apenas em casos de falta de simetria na distribuição dos dados. O método não paramétrico foi utilizado apenas em casos de ausência de normalidade e simetria, o que impossibilita o uso dos outros quatro métodos, e no caso em que o tamanho da amostra era maior do que 120 indivíduos.

4 Resultados

Os resultados obtidos para os 12 parâmetros hematológicos, incluído a estatística descritiva dos dados brutos, os cálculos dos Intervalos de Referência (IR) e os Intervalos de Confiança (IC) de 90% para o limite inferior e superior dos IRs estão sintetizados na Tabela 1. As análises completas geradas pelo programa estatístico Reference Value Advisor v.2.1 estão compiladas nos Apêndices A até M.

Tadarida brasiliensis apresenta as células leucocitárias compostas por neutrófilos segmentados, linfócitos, eosinófilos e monócitos, não foram detectados basófilos. A estatística descritiva para a frequência dos diferentes tipos de leucócitos é apresentada na Tabela 2. A relação entre neutrófilos segmentados e linfócitos é bastante equilibrada na espécie (Tabela 1 e 2). Eosinófilos foram detectados em 75 (88,2%) dos 85 indivíduos analisados e monócitos foram detectados em 16 (18,6%) indivíduos dos 86 analisados.

Indivíduos com evidente hemólise na amostra e/ou valores atípicos no número total de leucócitos, neutrófilos segmentados e eosinófilos, muito discrepantes em relação ao conjunto de dados foram eliminados da amostragem.

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

Parâmetros Hematológicos	N	M ± DP	Med	Mín-Máx	IR	90% IC para LL	90% IC para UL
Hemácias (x10 ⁶ /μl) ²	119	10,1 ± 2,5	10,4	3,13 - 14,88	4,2 - 14,2	2,9 - 5,3	13,7 - 14,6
Hemoglobina (g/dl) ^{1,2}	119	11,5 ± 2,5	12,0	3,9 - 16,4	5,4 - 15,6	4,2 - 6,6	15,2 - 16,0
Hematócrito (%) ²	119	38,3 ± 9,7	39,9	11,5 - 56,9	16,6 - 55,2	12,7 - 20,2	53,4 - 56,8
VCM (fl) ¹	117	38,1 ± 1,6	38,2	33,6 - 42	34,6 - 40,9	33,9 - 35,1	40,6 - 41,2
CHCM (%) ³	117	30,1 ± 1,5	29,8	27,1 - 35,4	27,7 - 34,5	27,1 - 28,1	33,4 - 35,4
PPT(g/dl) ³	70	6,2 ± 0,3	6,2	5,2 - 7,0	5,5 - 7,0	5,2 - 5,8	6,8 - 7,0
Plaquetas (x10 ³) ³	139	2687,8 ± 1821,8	2307,0	282 - 9605	679,0 - 8041,5	282,0 - 791,0	6517,0 - 9605,0
Leucócitos (μl) ¹	96	1932,1 ± 1000,5	1800,0	500 - 4800	500,7 - 4383,9	426,9 - 601,7	3898,3 - 4918,3
Neutrófilos (μl) ²	84	942,4 ± 578,6	756,0	100 - 2745	116,8 - 2315,8	ND - 169,4	1984,8 - 2584,6
Linfócitos (μl) ²	86	1000,2 ± 666,9	866,0	126 - 3111	173,4 - 2697,5	137,5 - 218,6	2257,0 - 3166,0
Eosinófilos (μl) ³	85	204,1 ± 189,6	145,0	0 - 817	0,0 - 691,6	0,0 - 0,0	603,9 - 817,0
Monócitos (μl) ³	86	13,1 ± 47,5	0,0	0 - 392	0,0 - 130,4	0,0 - 0,0	54,6 - 392,0

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

Tabela 2 - Estatística descritiva da frequência (%) dos quatro tipos de leucócitos componentes do sangue de indivíduos de *Tadarida brasiliensis* capturados entre abril de 2019 e março de 2020, no município de Capão do Leão (RS), extremo sul do Brasil.

Tipos de Leucócitos	n	Média ± Desvio Padrão	Mediana	Mínimo - Máximo
Neutrófilos	84	44,6 ± 18,6	42	9 - 84
Linfócitos	86	44,4 ± 15,1	46	12 - 80
Eosinófilos	85	9,7 ± 8,5	8	0 - 40
Monócitos	86	0,57 ± 1,69	0,57	0 - 10

5 Discussão

O presente estudo apresenta pela primeira vez os Intervalos de Referência hematológicos para uma espécie de Molossidae, *Tadarida brasiliensis*, estabelecendo comparações entre a família Molossidae e outras famílias de morcegos. Até o momento estavam disponíveis dados hematológicos para espécies de Molossidae baseados em poucos indivíduos e sem estabelecimento de IR (VILLALBA-ALEMÁN; MUÑOZ-ROMO, 2016). Grande parte dos estudos hematológicos realizados com espécies de morcegos não estabelecem Intervalos de Referência ou os cálculos são realizados com poucos indivíduos capturados em um período restrito do ano ou as análises estatísticas são questionáveis. A maioria dos trabalhos apresenta apenas a média com desvio padrão ou mediana e valores mínimos e máximos de cada parâmetro hematológico. Essas limitações metodológicas e estatísticas dificultam a comparação dos parâmetros entre as espécies e o estabelecimento de padrões hematológicos para as famílias de morcegos.

Os Intervalos de Referência foram calculados com um número razoável de indivíduos saudáveis, incluindo machos e fêmeas adultos capturados em todos os meses do ano e em diferentes períodos de seus ciclos reprodutivos. Uma parcela da população de *T. brasiliensis* é residente no outono e inverno na região, ao contrário da maioria das regiões de distribuição da espécie no hemisfério sul, o que possibilitou a captura o ano inteiro.

Os morcegos tendem a possuir valores altos e variáveis de hemoglobina, hemácias, hematócrito, VCM e CHCM do que outras espécies de mamíferos, devido à alta necessidade de oxigênio para se deslocar por meio do voo (MAINA, 2000; RASKIN; WARDROP, 2011). Para tal, os morcegos apresentam como adaptação um sistema circulatório altamente especializado para atender essas necessidades, produzindo hemácias de tamanho reduzido e em maior número, a fim de melhorar sua ligação com oxigênio e aumentar sua capacidade de transporte (VILLALBA-ALEMÁN; MUNOZ-ROMO, 2016; SAFRA et al., 2018). Os dados obtidos no presente estudo indicam que *T. brasiliensis* apresenta ampla variação nos parâmetros de hematimetria,

incluindo contagem de hemácias, concentração de hemoglobina e hematócrito quando comparado com outras espécies das famílias Pteropodidae, Phyllostomidae e Vespertilionidae. A maior diferença observada foi nos valores mais baixos dos limites inferiores dos Intervalos de Referência. Esses resultados podem ser atribuídos ao número alto de indivíduos machos e fêmeas em diferentes estágios reprodutivos incluídos na amostra, que foram eficientes para detectar a variabilidade da espécie. Porém, outra possibilidade é a variação ser decorrente das mudanças fisiológicas devidas às variações de temperatura, estado de torpor e na disponibilidade de alimento na região.

Apesar de haver uma população residente na área de estudo todo o ano, os indivíduos não saem dos abrigos em períodos de temperatura muito baixa e não se alimentam, o que pode durar alguns dias. Já foi descrito que a espécie entra em torpor, o que pode ser responsável pelo limite inferior baixo dos Intervalos de Referência desses três parâmetros. As concentrações dos constituintes do sangue mudam quando um animal fica exposto a mudanças de temperatura, baixa qualidade de alimentos e a componentes endógenos, como os hormônios sexuais (WOLKERS et al., 1994; RASHID et al., 2016; BANDOUCHOVA et al., 2020).

O número de hemácias totais obtido no presente estudo apresentou grande variação (IR 4,2 - 14,2 x10⁶ µl) sendo o valor médio encontrado (10,1 ± 2,5 x10⁶ µl) semelhante ao de sete indivíduos de *Tadarida brasiliensis mexicana* (10,65 x10⁶ µl) (KRUTZSH; HUGHES, 1959). Morcegos frugívoros da família Pteropodidae, como *Eidolon helvum* (SELIG et al., 2016), *Rousettus aegyptiacus* (MORETTI et al., 2020), *Pteropus alecto* (MCMICHAEL et al., 2015) e *Pteropus conspicillatus* (MCMICHAEL et al., 2019) apresentam Intervalos de Referência pouco variáveis quando comparados com *T. brasiliensis*. O mesmo parece ocorrer com morcegos hematófagos da família Phyllostomidae, como *Desmodus rotundus* (SANTOS et al., 2007). Já morcegos insetívoros da família Vespertilionidae, como *Miniopterus orianae* (HOTZ et al., 2020), apresentou valor de referência com variação semelhante, porém com limites inferiores e superiores de IR mais altos do que apresentado para *T. brasiliensis*. Tal achado leva a concluir que o tipo de dieta e sua disponibilidade no hábitat pode ser um fator determinante na amplitude dos valores médios de hemácias circulantes.

Os valores de concentração de hemoglobina obtidos também apresentaram grande variação e são baixos quando comparados a espécies de outras famílias (IR 5,4 - 15,6 g/dl). Os IRs de espécies de morcegos Pteropodidae são menos amplos e

com tendência a terem limites inferiores e superiores mais altos do que *T. brasiliensis*, como constatado nas espécies *E. helvum* (SELIG et al., 2016), *R. aegyptiacus* (MORETTI et al., 2020), *Pteropus alecto* (MCMICHAEL et al., 2015), *P. conspicillatus* (MCMICHAEL et al., 2019) e *Pteropus poliocephalus* (EDSON et al., 2018). O mesmo padrão foi observado quando o IR de *T. brasiliensis* é comparado com os de espécies de Vespertilionidae, como *Miniopterus orianae* (HOTZ et al., 2020), *Myotis myotis* (BANDOUCHOVA et al., 2020) e *Myotis dacycneme* (KOVALCHUK et al., 2017). O valor médio obtido para concentração de hemoglobina para *T. brasiliensis* ($11,5 \pm 2,5$ g/dl) é menor do que o encontrado para 14 indivíduos de *Otomops martiensseni* ($19,4$ g/dl) (KINOTI, 1973).

O IR para o hematócrito de *T. brasiliensis* apresentou maior variação e, no geral, é mais baixo do que o observado em outras espécies (IR 16,6 - 55,2 %). Espécies de morcegos Pteropodidae, como *E. helvum* (SELIG et al., 2016), *P. alecto* (MCMICHAEL et al., 2015) e *P. conspicillatus* (MCMICHAEL et al., 2019), apresentam os limites inferiores do IR mais altos e os limites superiores semelhantes ao obtido para *T. brasiliensis*. Espécies de morcegos Phyllostomidae apresentam pouca variação e valores mais altos de hematócrito do que observado em *T. brasiliensis*, como foi detectado em *Phyllostomus discolor* e *Carollia perspicillata* (SCHINNERL et al., 2011) e *D. rotundus* (SANTOS et al., 2007). Já espécies de Vespertilionidae, como *M. schreibersii* (HOTZ et al., 2020), *M. dacycneme* (KOVALCHUK et al., 2017) e *M. elegans* (SCHINNERL et al., 2011) apresentam pouca variação e limites inferiores e superiores de IR de hematócrito mais elevados que os de *T. brasiliensis*. Os valores médios de hematócrito de 12 espécies de Molossidae variaram de 50% (n=5) em *Tadarida mops* até 65,8% (n= 6) em *Molossus sinaloae*, sendo que o valor médio para *T. brasiliensis* foi de 53,5% (n=12) (VILLALBA-ALEMÁN; MUÑOZ-ROMO, 2016). Schinnerl et al. (2011) trabalhou na Costa Rica com 26 espécies de diferentes famílias e encontrou os maiores valores de hematócrito para as duas espécies de Molossus, *M. bondae* e *M. sinaloae*, concluindo que espécies da família possuem os valores mais altos para esse parâmetro. Porém, os valores obtidos no presente trabalho são mais baixos, indicando que possa haver variação geográfica, provavelmente determinado por efeitos de variações em temperatura e na disponibilidade de alimento.

Por outro lado, os intervalos de referência obtidos para VCM e CHCM seguem um padrão distinto apresentando pequena variação e valores baixos quando comparados com espécies de outras famílias. O VCM apresentou uma diferença de

apenas 6,3 fl entre o limite inferior e superior do IR (34,6 - 40,9 fl) e o CHCM teve variação de 6,8% entre os limites inferiores e superiores do IR (27,7 - 34,5 %). Em morcegos Pteropodidae, os intervalos de VCM e CHCM são mais amplos e têm os limites mais altos, como observado em *E. helvum* (SELIG et al., 2016), *P. poliocephalus* (EDSON et al., 2018), *Pteropus alecto* (McMichael et. al., 2015) e *P. conspicillatus* (MCMICHAEL et. al., 2019). O mesmo ocorreu com as espécies *M. dacyneme* (KOVALCHUK et al., 2017) e *Miniopterus orianae bassanii* (HOLTZ et at., 2020) e uma espécie Phyllostomidae, *D. rotundus* (SANTOS et al., 2007), cujos limites inferiores de seu intervalo ainda apresentaram valores maiores que em *T. brasiliensis*.

Os valores obtidos para plaquetas em *T. brasiliensis* apresentaram intervalo com grande variação, além de limite superior alto (IR 679,0 - 8041,5 $\times 10^3/\mu\text{l}$). Em Pteropodidae foi observado que algumas espécies apresentaram os valores de intervalo menos amplo e com limite superior mais baixo, a exemplo de *E. helvum* (SELIG et al., 2016) e *R. aegyptiacus* (MORETTI et al., 2020). O mesmo parece ocorrer com alguns Vespertilionidae, como *M. dacyneme* (KOVALCHUK et al., 2017). Os valores para plaquetas com grande variação e limite superior alto em *T. brasiliensis* pode estar relacionado a fatores comportamentais. *Tadarida brasiliensis* vivem em abrigos que podem chegar a milhares de indivíduos. Essa característica aumenta as chances desses animais sofrerem algum tipo de lesão sendo, portanto, uma importante adaptação para essa espécie ter um número alto de plaquetas. Além disso, fêmeas grávidas foram capturadas, já que as capturas foram feitas ao longo de todo o ano e em diferentes épocas reprodutivas. Esse fato pode ter possibilitado um aumento nos níveis das plaquetas, uma vez que essas células são importantes para coagulação sanguínea e consequente hemostasia tecidual (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007).

Os valores obtidos para leucócitos totais de *T. brasiliensis* apresentaram menor variação e limites inferiores e superiores menores (IR 500,7 - 4383,9 μl) do que o relatado para os Pteropodidae, *R. aegyptiacus* (MORETTI et al., 2020) e *E. helvum* (SELIG et al., 2016). O mesmo padrão pode ser observado em relação aos Phyllostomidae, como *D. rotundus* (SANTOS et al., 2007), *A. watsoni*, *G. commissarisi* e *C. perspicillata* (SCHINNERL et al., 2011). Os valores apresentados para Vespertilionidae, como em *M. elegans* (SCHINNERL et al., 2011) e *M. orianae bassanii* (HOLTZ et at. 2020) também mostraram os limites inferiores e superiores mais altos quando comparados a *T. brasiliensis*, da mesma forma que valores

encontrados para o Emballonuridae *Rhynchonycteris naso* (SCHINNERL et al., 2011) e o Molossidae *M. bondae* (SCHINNERL et al., 2011).

Os valores obtidos para neutrófilos de *T. brasiliensis* apresentaram intervalo com pouca variação (IR 116,8 - 2315,8 μ l) quando comparados a outras famílias de morcegos. Os IRs de espécies de morcegos Pteropodidae são mais amplos e com limites inferiores e superiores mais altos do que *T. brasiliensis*, como apresentado nas espécies *E. helvum* (SELIG et al., 2016), *P. poliocephalus* (EDSON et al., 2018), *P. alecto* (MCMICHAEL et al. 2015) e *R. aegyptiacus* (MORETTI et al., 2020). Da mesma maneira foi observado quando o IR de *T. brasiliensis* foi comparado com o Vespertilionidae *M. orianae bassanii* (HOLTZ et al., 2020) e morcegos Phyllostomidae, como *D. rotundus* (SANTOS et al., 2007), *A. watsoni*, *P. discolor* e *C. perspicillata* (SCHINNERL et al., 2011). Os valores obtidos para o Molossidae *M. bondae* (SCHINNERL et al., 2011) apresentaram tanto o limite inferior como o superior mais altos em que os apresentados para *T. brasiliensis*.

O número de linfócitos obtido para *T. brasiliensis* apresentou uma variação semelhante os valores apresentados para neutrófilos (IR 173,4 - 2697,5 μ l). Os IRs de Pteropodidae apresentaram os limites inferiores mais baixos e superiores mais altos do que *T. brasiliensis*. Esse fato pode ser observado em *P. poliocephalus* (EDSON et al., 2018), *P. conspicillatus* (MCMICHAEL et al., 2019) e *R. aegyptiacus* (MORETTI et al., 2020). Em contrapartida, *E. helvum* (SELIG et al., 2016) e *P. alecto* (MCMICHAEL et al., 2015) apresentaram seus limites inferiores maiores que os apresentados para *T. brasiliensis*, assim como seus limites superiores. O mesmo parece ocorrer com morcegos hematófagos da família Phyllostomidae, como *A. watsoni* e *P. discolor* (SCHINNERL et al., 2011), cujos valores também apresentaram maior variação que *T. brasiliensis*. Já morcegos Molossidae, como *M. bondae* (SCHINNERL et al., 2011) apresentaram seus limites inferiores e superiores um pouco mais altos e variação semelhante aos apresentados para *T. brasiliensis*.

Tadarida brasiliensis apresentou uma relação equilibrada entre leucócitos do tipo neutrófilos e linfócitos. Já tem sido constatado uma variabilidade destas proporções entre grupos taxonômicos de morcegos, mas seu significado biológico ainda deve ser discutido. Espécies de morcegos Vespertilionidae como *E. serotinus* e *M. orianae bassanii* e Phyllostomidae, como *D. rotundus*, *G. commissarisi* e *M. elegans* tem predominância linfócitos (WOLK; RUPRECHT, 1988 SCHINNERL et al., 2011 ALMEIDA et al., 2014 HOLTZ et al., 2020). Algumas espécies de Pteropodidae,

como *P. giganteus* (MCLAUGHLIN et. al., 2007), *P. alecto* (MCMICHAEL et. al., 2015) e *R. aegyptiacus* (MORETTI et al., 2020) possuem proporção de neutrófilos maior quando comparada ao número de linfócitos.

Com neutrófilos e linfócitos na primeira linha de defesa do organismo, o sistema imunológico precisa montar uma defesa primária significativa a agentes patogênicos. Essa barreira imunológica pode ser linfocítica, quando houver incidência maior de patógenos virais, ou neutrofílica, quando a incidência for principalmente bacteriana (MUÑOZ; MORÓN, 2005; LOPEZ; MACAYA, 2009; TESK, 2011). Nesse sentido, pode-se também considerar que a proporção neutrófilo/linfócito pode ser atribuída a um viés adaptativo aos tipos de patógenos que as diferentes espécies de morcegos estão expostas e a saúde dos indivíduos amostrados (VILLALBA-ALEMÁN; MUNOZ-ROMO, 2016).

O número de eosinófilos obtido para *T. brasiliensis* apresentou ampla variação (IR 0,0 - 691,6 μ l). Morcegos Pteropodidae, como *E. helvum* (SELIG et al., 2016), *R. aegyptiacus* (MORETTI et al., 2020), *P. alecto* (MCMICHAEL et al., 2015) e *P. conspicillatus* (MCMICHAEL et al., 2019) apresentam IR menos variáveis quando comparados com *T. brasiliensis*. Em adição, com exceção de *E. helvum* (SELIG et al., 2016), cujo limite inferior apresentou valor mais alto, todos os outros Pteropodidae referenciados apresentaram limite inferior igual ao observado em *T. brasiliensis*. O mesmo parece acontecer com morcegos Emballonuridae, como *R. naso* (SCHINNERL et al., 2011). Já morcegos Vespertilionidae, como *M. elegans* (SCHINNERL et al., 2011), tiveram intervalos com variação semelhante à observada em *T. brasiliensis*, assim como os valores apresentados para o Phyllostomidae *D. rotundus* (SANTOS et al., 2007). *Todavia*, *A. jamaicensis* e *G. commissarisi* apresentaram intervalos com limites inferiores mais altos e limites superiores mais baixos que *T. brasiliensis*. Morcegos Molossidae, como *M. bondae* (SCHINNERL et al., 2011) apresentaram intervalo com limite inferior um pouco mais alto e limite superior consideravelmente mais baixo quando comparado aos valores apresentados para *T. brasiliensis*.

Eosinófilos controlam infecções parasitárias, respondendo rapidamente ao agente patogênico. A espécie *T. brasiliensis* têm comportamento gregário, deslocando-se para forragear e retornando a grande colônia. Esse tipo de comportamento pode aumentar as chances de os morcegos estarem sob maior risco de infestação parasitária, além de poderem perpetuar algum ciclo parasitário no

interior da colônia (SCHNEEBERGER et al., 2013). Desse modo, devem contar com uma rápida defesa imune não específica, a fim de não investir tanto em respostas adaptativas mais lentas (SCHNEEBERGER et al., 2013).

Os valores de monócitos em *T. brasiliensis* apresentaram uma variação significativa (0,0 - 130,4 μ l). Em morcegos Pteropodidae, como *E. helvum* (SELIG et al., 2019), *R. aegyptiacus* (MORETTI et al., 2020), *P. poliocephalus* (EDSON et al., 2018) e *P. alecto* (MCMICHAEL et al., 2015) também foi observado uma grande variação em seus intervalos, mas com o limite superior mais alto que o apresentado para *T. brasiliensis*. Algo semelhante foi apresentado em morcegos Phyllostomidae, como *P. discolor*, *A. watsoni*, *C. perspicillata* (SCHINNERL et al., 2011) e *D. rotundus* (SANTOS et al., 2007) e morcegos Vespertilionidae, como *M. orianae bassanii* (HOLTZ et al., 2020) e *M. elegans* (SCHINNERL et al., 2011). Em contrapartida, os valores para *M. bondae* (SCHINNERL et al., 2011) apresentaram intervalo menos amplo e com limite superior mais baixo, embora a média apresentada (13 ± 4 μ l) tenha sido semelhante a encontrada em *T. brasiliensis* ($13,1 \pm 47,5$ μ l).

Monócitos possuem papel imunológico importante contra patógenos invasores, eliminando-os através de mecanismos não específicos, como a fagocitose (SCHNEEBERGER et al., 2013). *Tadarida brasiliensis* vive em grandes colônias heterogêneas, com variação em seu número, dependendo da época do ano. Como as capturas foram realizadas ao longo de um ano inteiro, infere-se que a variação no IR para monócitos pode estar relacionada a esse fato, já que muitos morcegos apresentaram poucos ou nenhum monócito e alguns indivíduos apresentaram alta contagem de monócitos.

Tadarida brasiliensis apresentou valores médios mais baixos, e limites mínimo e máximo menos amplos para Proteínas Totais quando comparados a espécies de morcegos Pteropodidae, como *P. conspicillatus* (MCMICHAEL et al., 2019) e morcegos Phyllostomidae, como *D. rotundus* (SANTOS et al., 2007). O valor de IR para PPT de *T. brasiliensis* provavelmente tem reflexo em sua dieta. *Tadarida brasiliensis* se alimenta de insetos, que possuem uma baixa taxa energética. Além disso, a qualidade e quantidade de recursos alimentares em um ecossistema de clima temperado como o sul do Brasil não são consistentes, podendo oscilar entre as quatro estações do ano, o que poderia afetar os valores de PPT. Como os indivíduos foram capturados enquanto estavam no início de suas atividades, é possível que os níveis de PPT estivessem mais baixos se comparados ao final desse período, uma vez que

a concentração de PPT é em geral mais baixa no início do período de atividades (KORINE et al., 1999).

6 Considerações Finais

Este estudo fornece um conjunto completo do perfil hematológico para *T. brasiliensis* e é o primeiro trabalho que apresenta Intervalos de Referência para a espécie e para a família Molossidae seguindo padrões recomendados pela American Society for Veterinary Clinical Pathology. Os resultados desse trabalho serão úteis para monitorar a saúde de indivíduos e da população de *T. brasiliensis*, que é uma espécie que vive em proximidade com humanos e animais domésticos, abrigando-se em construções e que pode albergar diversos agentes patogênicos. O estabelecimento de Intervalos de Referência para *T. brasiliensis*, além de uma importante ferramenta sanitária, ainda pode ser útil em tomadas de decisões relacionadas ao seu manejo e conservação.

Referências

ALMEIDA, M. F.; NETTO-TREZZA, J.; AIRES, C. C.; BARROS, R. F.; ROSA, A. R.; MASSAD, E. Hematologic profile of hematophagous *Desmodus rotundus* bats before and after experimental infection with rabies vírus. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 3, p. 371-373, 2014.

ALMOSNY, N. R. P.; MONTEIRO, A. O. Patologia Clínica. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens**. 1ed, São Paulo, Roca, 2007, p.939-966.

ANTUNES, A. C. Efeito da fragmentação florestal sobre parâmetros hematológicos em três espécies de morcegos (*Artibeus lituratus*, *Carollia perspicillata* e *Sturnira lilium*). **Trabalho de conclusão de curso para obtenção de grau de bacharel em Ciências Biológicas**. UNESP, Rio Claro, 2013.

BANDOUCHOVA, H.; ZUKAL, J.; LINHART, P.; BERKOVA, H.; BRICHTA, J.; KOVACOVA, V. Low seasonal variation in greater mouse-eared bat (*Myotis myotis*) blood parameters. **PLoS ONE**, v. 15, n. 7, 2020.

BAPTISTA, M.; MONTEIRO, O. A.; ALMOSNY, N. R. P.; BERGALLO, H. G. Técnica para punção venosa em morcegos (Mammalia, Chiroptera). **Chiroptera Neotropical**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, 2006.

BIINO, G.; SANTIMONE, I.; MINELLI, C.; SORICE, R.; FRONGIA, B.; TRAGLIA, M.; ULIVI, S.; TONIOLO, D.; CIULLO, M.; PRAMSTALLER, P.; PIRASTU, M.; GAETANO, G.; BALDUINI, C. Age- And Sex-Related Variations in Platelet Count in Italy: A Proposal of Reference Ranges Based on 40987 Subjects' Data. **PLOS ONE**, v. 8, n. 1, 2013.

BOURGÈS-ABELLA, N. H.; GURY, T. D.; GEFFRÉ, A.; CONCORDET, D.; THIBAUT-DUPREY, K. C.; DAUCHY, A.; TRUMEL, C. Reference intervals, intraindividual and interindividual variability, and reference change values for hematologic variables in laboratory beagles. **Journal of the American Association for Laboratory Animal**, v. 54, n. 1, p. 17-24, 2015

BOTTO-NUNEZ, G.; GENTA, M.; DÍAZ, M.; RODALES, A. L.; GONZÁLEZ, E. Circannual sex distribution of the Brazilian free-tailed bat, *Tadarida brasiliensis* (Chiroptera: Molossidae), suggests migration in colonies from Uruguay. **Mastozoologia Neotropical**, v. 25, p. 213-219, 2018.

CALISHER, C.H.; JAMES, E.C.; FIELD, H.E.; HOLMES, K.V.; SCHOUNTZ, T. Bats: Important Reservoir Hosts of Emerging Viruses. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 3, p. 531–545, 2006.

CLAUDIO, V.C.; GONZALEZ, I.; BARBOSA, G.; ROCHA, V.; MORATELLI, R.; RASSY, F. Bacteria richness and antibiotic-resistance in bats from a protected area in the Atlantic Forest of Southeastern Brazil. **PLoS ONE**, v. 13, n. 9, p. 1-18, 2018.

CLEVELAND, C. J. BETKE, M.; FEDERICO, P.; FRANK, J.; HALLAM, T.; HORN, J.; LÓPEZ, J.; MCCracken, G.; MEDELLÍN, R.; MORENO, A.; SANSONE, C. Economic value of the pest control service provided by Brazilian Free-tailed bats in south-central Texas. . **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 4, p. 238-243, 2006.

EDSON, D.; FIELD, H.; MCMICHAEL, L.; MAYER, D.; MARTIN, J.; WELBERGEN, J.; MCLAUGHLIN, A.; HUTH, L.; KRISTOFFERSEN, J.; TSOUKALAS, G.; KIRKLAND, P. Hematology, plasma biochemistry, and urinalysis of free-ranging grey-headed flying foxes (*Pteropus poliocephalus*) in Australia. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 49, n. 3, p. 591–598, 2018.

ESTAÇÃO AGROCLIMATOLÓGICA DE PELOTAS (CAPÃO DO LEÃO). Disponível em: <<http://www.cpact.embrapa.br/agromet/estacao/estacional>> Acesso em: 16 julho 2020.

EKEOLU, O. K.; ADEBIYI, O. E. Hematology and erythrocyte osmotic fragility of the Franquet's fruit bat (*Epomops franqueti*). **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 29, n. 4, p. 391-394, 2018.

FABIÁN, M.; MARQUES, R. Aspectos do comportamento de *Tadarida brasiliensis brasiliensis* (L. Geoffroy, 1824) (Chiroptera; Molossidae) em ambiente urbano. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 4, p. 65–86, 1996.

FAZIO, F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. **Aquaculture**, v. 500, n. 1, p. 237–242, 2019.

FENTON, M.B.; RATCLIFFE, J.M. Quick guide: Bats. **Current Biology**, v. 20, n. 24, p.1060-1062, 2010.

FRANCO, Adeline Dias. **Uso de abrigo e composição de colônia de *Tadarida brasiliensis* (I. Geoffroy, 1824) (Chiroptera, Molossidae) no sul do Rio Grande do Sul, Brasil**. 2011. 33f. Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências Biológicas (Bacharelado). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

FRIEDRICHS, K. R.; HARR, K. E.; FREEMAN, K. P.; SZLADOVITS, B.; WALTON, R. M.; BARNHART, K. F.; BLANCO-CHAVEZ, J. ASVCP Reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 41, n. 4, p. 441-453, 2012.

GEFFRÉ, A., FRIEDRICHS, K., HARR, K., CONCORDET, D., TRUMEL, C.; BRAUN, J. P. Reference values: a review. Veterinary. **Clinical Pathology**, v. 38, p. 288-298, 2009.

GEORGE J. W.; SNIPES J.; LANE V. M. Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. **Vet. Clin. Pathol.** v.39, n.2, p.138-148, 2010.

GRAESLI, A. R.; EVANS, A. L. FAHLMAN, A.; BERTELSEN, M. F.; BLANC, S.; ARNEMO, J. M. Seasonal variation in haematological and biochemical variables in free-ranging subadult brown bears (*Ursus arctos*) in Sweden. **BMC Veterinary Research**, p. 1-9, 2015.

HIDALGO-VILA, J.; DÍAZ-PANIAGUA, C.; FRUTOS-ESCOBAR, C.; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, C.; PÉREZ-SANTIGOSA, N. Hematologic and Biochemical Reference Intervals of Free-Living Mediterranean Pond Turtles (*Mauremys leprosa*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 43, n. 4, p. 798-801, 2007.

HE, Q.; SU, G.; LIU, K.; ZHANG, F.; JIANG, Y.; GAO, J.; LIU, L.; JIANG, Z.; JIN, M.; XIE, H. Sex-specific reference intervals of hematologic and biochemical analytes in Sprague-Dawley rats using the nonparametric rank percentile method. **PLOS One**, v. 12, n. 2, p. 1-18, 2017.

HOLZ, P. H.; CLARK, P.; MCLELLAND, D. J.; LUMSDEN, L. F.; HUFSCHMID, J. Haematology of southern bent-winged bats (Miniopterus). **Comparative Clinical Pathology**, v. 29, p. 231–237, 2020.

IBGE – Diretoria de Geociências Anuário Estatístico do Brasil, 1997: Unidades Climáticas. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/cartogramas/clima.html> Acessado em: 01 julho 2020.

IBGE– Atlas Nacional do Brasil, 2010. Disponível em: http://downloads.ibge.gov.br/downloads_geociencias.html Acessado em: 01 julho 2020.

IUCN (2018). The IUCN red list of threatened species. Version 2018-2. <http://www.iucnredlist.org>. Acessado em 21/06/2020.

JAIN, N. C. **Essentials of Veterinary Hematology**. 1 ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1993. 417p.

KAUR, H.; SINGH, S.; RATHORE, Y. S.; SHARMA, A.; FURUKAWA, K.; HOHMANN, S.; MONDAL, A. K. Differential role of HAMP-like linkers in regulating the functionality of the group III histidine kinase DhNik1p. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 29, 2014.

KIZHINA, A.; UZENBAEVA, L.; ANTONOVA, E.; BELKIN, V.; ILYUKHA, V.; KHIZHKIN, E. Hematological parameters in Hibernating *Eptesicus nilssonii* (Mammalia: Chiroptera) collected in northern European Russia. **Acta Chiropterologica**, v. 20, n. 1, p. 273-283, 2018.

KINOTI, G. K. Observations on the blood of a tropical bat, *Otomops martiensseni*. **African Journal of Ecology**, v.11, n.2, p.129-134, 1973.

KOVALCHUK, L.; MISHCHENKO, V.; CHERNAYA L.; SNITKO, V.; MIKSHEVICH, N. Haematological parameters of pond bats (*Myotis dasycneme* Boie, 1825 Chiroptera: Vespertilionidae) in the Ural Mountains. **Zoology and Ecology**, v. 27, n. 2, p. 168-175, 2017.

KORINE, C.; ZINDER, O.; ARAD, Z. Diurnal and seasonal changes in blood composition of the free-living Egyptian fruit bat (*Rousettus aegyptiacus*). **Journal of Comparative Physiology B**, v. 169, p. 280-286, 1999.

KUNZ, T. H.; KURTA, A. Ecological and behavioral methods for the study of Bats: Capture methods and holding devices. In: KUNZ, T. H. (edited). **Smithsonian Institution**, p. 1-29, 1988.

KRUTZSCH, P. H.; HUGHES, A. H. Hematological changes with torpor in the bat. **Journal of Mammalogy**, v. 40, p. 547-554, 1959.

KUZEL, M. A. A.; TAVARES, J. A.; FERNANDES, P. A.; ALVES, B.; NETO, S. F. C.; LACORTE, C.; BORGES, M. S.; BONNA, I. C. F. B.; ANDREAZZI, C. S.; MORATELLI, R. Haematological values for large free-living fruit bats, *Artibeus lituratus* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 57, n. 3, p. 1-9, 2020.

LATIMER, K. S.; BIENZLE, D. Determination and interpretation of de avian leukogram. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (eds.). **Schalm's Veterinary Hematology**, 6th Ed., Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, 2011, p. 345-357.

LIU, L.; JOHNSON, H. L.; COUSENS, S.; PERIN, J.; SCOTT, S.; LAWN, J.; RUDAN, I.; CAMPBELL, H.; CIBULSKIS, R.; LI, M.; MATHERS, C. Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. **The Lancet**, v. 379, p. 2151-2161, 2012.

LOPEZ, F. A.; MACAYA, M. C. **Libro de la salud cardiovascular del Hospital Clínico San Carlos y de la Fundación bbva**. Primera edición. Fundación bbva, ediciones Bilbao, España. 2009.

LUMSDEN, J. H.; MULLEN, K. On establishing reference values. **Canadian Journal of Comparative Medicine: Revue canadienne de medecine comparee**, v. 42, n. 3, p. 293-301, 1978.

MAHLKNECHT, U., KAISER, S. Age-related changes in peripheral blood counts in humans. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 1, n. 6, p. 019-1025, 2010.

MAINA, J. N. What it takes to fly: the structural and functional respiratory refinements in birds and bats. **Journal of Experimental Biology**, v. 203, p. 3045-3064, 2000.

MAY-JÚNIOR, J. A.; SONGSASEN, N.; AZEVEDO, F. C.; SANTOS, J. P.; PAULA, R. C. Hematology and blood chemistry parameters differ in Free-ranging maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) living in the Serra da Canastra National Park versus adjacent farmlands, Brazil. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 45, n. 1, p. 81-90, 2009.

MCLAUGHLIN, A. B.; EPSTEIN, J. H.; PRAKASH, V.; SMITH, C. S.; DASZAK, P.; FIELD, H. E.; CUNNINGHAM, A. A. Plasma Biochemistry and Hematologic Values for Wild-Caught Flying Foxes (*Pteropus giganteus*) in India. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 38, n. 3, p. 446-452, 2007.

MCMICHAEL, L.; EDSON, D.; MCLAUGHLIN, A.; MAYER, D.; KOPP, S.; MEERS, J.; HUME FIELD, H. Haematology and Plasma Biochemistry of Wild Black Flying-Foxes, (*Pteropus alecto*) in Queensland, Australia. **PLoS ONE**, v. 10, n. 5, 0125741, 2015.

MCMICHAEL, L.; EDSON, D.; MCKEOWN, A.; SANCHEZ, C.; MAYER, D.; KOPP, S.; MEERS, J.; FIELD, H. Hematology and Plasma Biochemistry of Wild Spectacled Flying Foxes (*Pteropus conspicillatus*) in Australia. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 55, n. 2, p. 449–454, 2019.

MORATELLI, R.; CALISHER, C. H. Bats and zoonotic viruses: can we confidently link bats with emerging deadly viruses. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 1, p. 1-22, 2015.

MORETTI, P.; RAVASIO, G.; MAGNONE, W.; DI CESARE, F.; PALTRINIERI, S.; PECILE, A.; GIORDANO, A. Haematological, serum biochemical and electrophoretic data on healthy captive Egyptian fruit bats (*Rousettus aegyptiacus*). **Laboratory Animals**. 1–11, 2020

MOSA, S. G. Riesgos potenciales y reales del confinamiento de murciélagos en un embalse: caso del dique Escaba, Argentina. **Memorias del X Congreso Internacional de Fauna Silvestre de América Latina**, Salta, Argentina, 1-12p. 2014.

MUNOZ, Z. M.; MORO, C. **Manual de Procedimientos de Laboratorio em Técnicas Básicas de Hematología**. Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú, 2005.

NIELSEN, H.M., ODEGÅRD, J., OLESEN, I., GJERDE, G., ARDO, T., JENEY, G., JENEY, Z. Genetic analysis of common carp (*Cyprinus carpio*) strains: I: Genetic parameters and heterosis for growth traits and survival. **Aquaculture**, v. 304, p. 14–21, 2010.

RACEY, P. A.; SWIFT, S. M.; MACKIE, I. Recommended methods for bleeding small bats. Comment on Smith *et al.* 2009. **Acta Chiropterologica**, v. 13, n 1, p. 223-225, 2011.

RASHID, N.; IRFAN, M.; NADEEM, M. S.; SHABBIR, A. Comparative Seasonal Haematology of Two Bat Species, *Scotophilus heathii* and *Pipistrellus pipistrellus*, in a Subtropical Area of Pakistan. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 48, n. 5, p. 1503-1510, 2016.

RASKIN, R. E.; WARDROP, K. J. Species specific hematology. In: **Schalm's veterinary hematology**. (Weiss D.J. y K.J., Wardrop, eds.) John Wiley & Sons. Minnesota, 2011. p. 799-957.

RODRÍGUEZ-DURÁN, A.; PADILLA-RODRÍGUEZ, E. Blood Characteristics, Heart Mass, and Wing Morphology of Antillean Bats. **Caribbean Journal of Science**, v. 44, n. 3, p. 375-379, 2008.

RUIZ, G.; ROSENMAN, M.; VELOSO, A.; Valores hematológicos y distribución altitudinal de anfibios chilenos. **Arch. Biol. Med. Exp.**, vol.20, p.79-84, 1987.

RUOSS, S.; BECKERB, N. I.; OTTOA, M. S.; CZIRJÁKC, G. A.; ENCARNAC, J. E. Effect of sex and reproductive status on the immunity of the temperate bat *Myotis daubentonii*. **Mammalian Biology**, v. 94, p. 120–126, 2019.

SAFRA, N.; CHRISTOPHER, M. M.; ERNEST, H. B.; BANDIVADEKAR, R.; TELL, L. A. Leukocyte reference intervals for Free-Ranging Hummingbirds in Northern California, USA. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 54, n. 3, p. 607-611, 2018.

SÁNCHEZ-SARMIENTO, A. M.; ZWARG, T.; FERNANDES-SANTOS, R. C.; GUIMARÃES-LUIZ, T.; GENOY-PUERTO, A.; MATUSHIMA, E. R. Hematological Parameters and the Variations Resulting from Stress of *Alouatta caraya* During a Wildlife Rescue Program in Brazil. **American Journal of Primatology**, v. 77, n. 3, p. 246-53, 2014.

SANTOS, A. P.; MOTIN, V. D.; HERMANN, G. P. Valores hematológicos de morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*) no sul do Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 1, p. 55-58, 2007.

SCHINNERL, M.; AYDINONAT, D.; SCHWARZENBERGER, F.; VOIGT, C. C. Hematological Survey of Common Neotropical Bat Species from Costa Rica. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 42, n. 3, p. 382-391, 2011.

SCHNEEBERGER, K.; CZIRJAK, G. A.; VOIGT, C. C. Measures of the constitutive immune system are linked to diet and roosting habits of neotropical bats. **PLoS ONE**, v. 9: e54023, 2013.

SELIG, M.; LEWANDOWSKI, A.; KENT, M. S. Establishment of reference intervals for hematology and biochemistry analytes in a captive colony of Straw-Colored Fruit Bats (*Eidolon Helvum*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 47, n. 1, p. 106–112, 2016.

SMITH, C. S., C. E. DE JONG, and H. E. FIELD. Sampling small quantities of blood from microbats. **Acta Chiropterologica**, v. 12, p. 255–258, 2010.

SIMMONS, N. B. Order **Chiroptera: Mammal species of the world**. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005. P. 312-529.

STACY, N. I. FIELD, C. L.; STAGGS, L.; MACLEAN, R. A.; STACY, B. A.; KEENE, J.; CACELA, D.; PELTON, C.; CRAY, C.; KELLEY, M.; HOLMES, S.; INNIS, C. Clinicopathological findings in sea turtles assessed during the BP Deepwater Horizon oil spill response. **Endangered Species Research**, v. 33, 2017.

STRUMPF, A. A.; MALMLOV, A.; AYERS, J. D.; SCHOUNTZ, T.; KENDALL, L. V. Hematologic Values of Jamaican Fruit Bats (*Artibeus jamaicensis*) and the Effects of Isoflurane Anesthesia. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 59, n. 3, p. 275-281, 2020.

SZWARCWALD, C. L.; MALTA, D. C.; JUNIOR, P. R. B. S.; ALMEIDA, W. S.; DAMACENA, G. N.; PEREIRA, C. A.; ROSENFELD, L. G. Exames laboratoriais da Pesquisa Nacional de Saúde: metodologia de amostragem, coleta e análise dos dados. **Revista Brasileira de Epidemiologia [online]**, v. 22, n. Supl 02, 2019.

TESK, E. Leukocytes. In: Weiss, D. J.; Wardrop K. J., (eds.). **Schalm's veterinary hematology**. John Wiley & Sons. Minnesota, MN, 2011. p. 263-418.

THENGARE, M.R.; DHAMANI, A.A.; DORLIKAR, A.V. Haematological parameters of the Wild Caught Emballonurid Bat, *Taphozous kachhensis* (Dobson). International. **Journal of Researches in Biosciencis, Agriculture & Technology**, v. 6, p. 205-207, 2015.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Baltimore. (MD): Lippincott Williams & Wilkins, 2004. p. 187, 341, 423.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2 ed: Roca, São Paulo, 2015.

UZENBAEVA, L. B.; KIZHINAA, A. G.; ILYUKHA, V. A.; BELKINA, V. V.; KHIZHKIN, E. A. Morphology and Composition of Peripheral Blood Cells during Hibernation in Bats (Chiroptera, Vespertilionidae) of Northwestern Russia. **Biology Bulletin**, v. 46, n. 4, p. 398–406, 2019.

VALDIVIESO, D.; TAMSITT, J. R. Hematological data from tropical American bats. **Canadian Journal of Zoology**, v. 49, n.1, p. 31-36, 1971. VILLALBA-ALEMÁN, E.;

MUÑOS-ROMO, M. Estudio de la variación de perfiles hematológicos de murciélagos. **Revista Mexicana de Mastozoología Nueva Época**, v. 6, n. 1, p. 1-14, 2016.

WIEDERHOLT, R.; LOPEZ-HOFFMAN, L.; SVANCARA, C.; MCCracken, G.; THOGMARTIN, W.; DIFFENDORFER, J.; MATTSON, B.; CRYAN, P.; RUSSELL, A.; SEMMENS, D.; MEDELLIN, R. A Optimizing conservation strategies for Mexican freetailed bats: a population viability and ecosystem services approach. **Biodiversity and Conservation**, v. 24, p. 63–82, 2014.

WORK, E.; BOGDANOWICZ, W. Hematology of the Hibernating Bat: *Myotis daubentoni*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 4, p. 637-639, 1987.

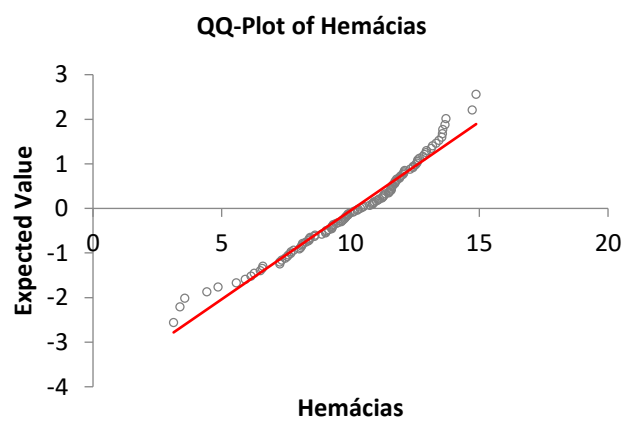
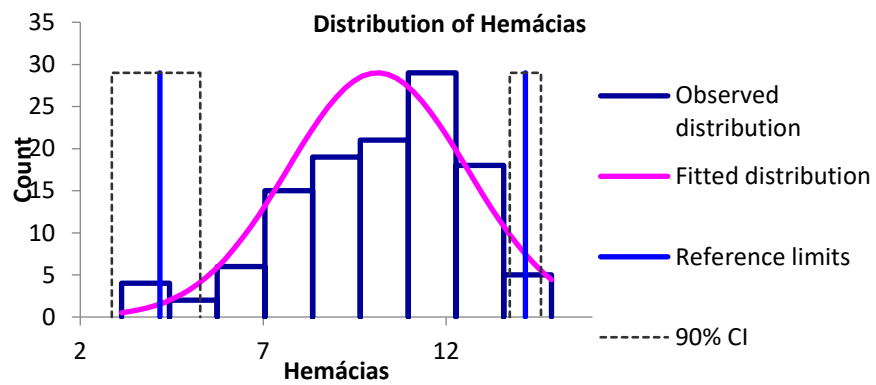
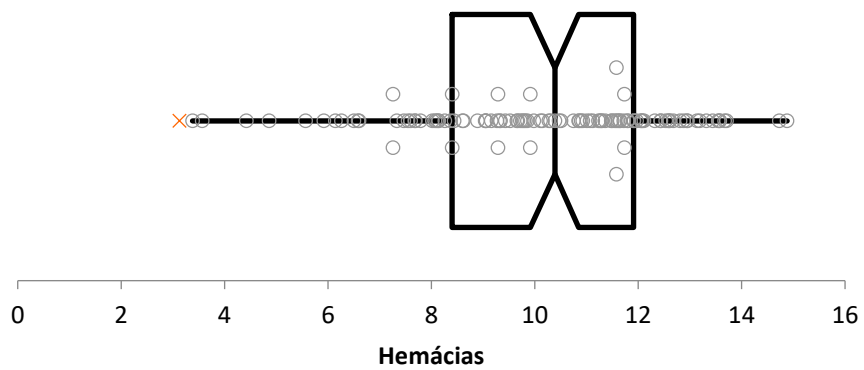
WOŁK, E.; RUPRECHT, A. L. Haematological Values in the Serotine Bat, *Eptesicus serotinus* (Schreber, 1774). **Acta Theriologica**, v. 33, n. 40, p. 545-553, 1988.

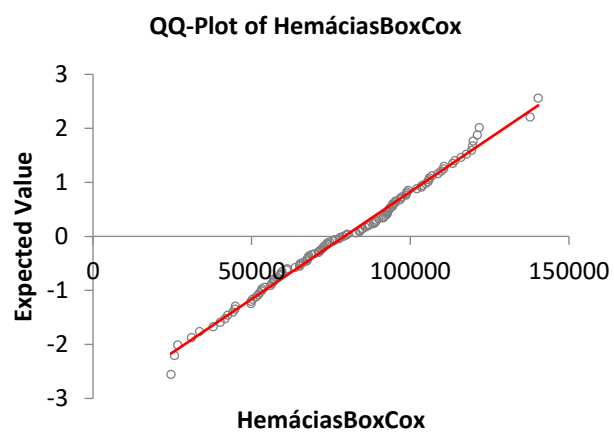
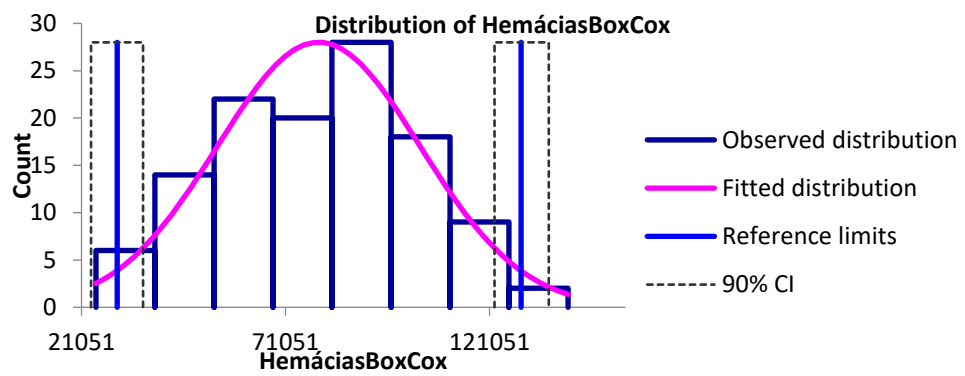
WOLKERS, H.; WENSING, T.; SCHONEWILLE, J. T. Effect of undernutrition on haematological and serum biochemical characteristics in red deer (*Cervus elaphus*). **Canadian Journal of Zoology**, v. 72, p. 1291-1296, 1994.

Apêndices

Apêndice A - Análises dos valores de contagem de hemácias do sangue de 119 indivíduos de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) geradas pelo *Reference Value Advisor* v2.1 (GÉFFRE et al., 2009).

<u>Reference Value</u> <u>Advisor</u> v2.1		Results for Hemácias			
Method	Untransformed data		Box-Cox transformed data		Nonparametric
	Standard	Robust	Standard	Robust	
N	119	119	119	119	119
Mean	10,1		79208,2		
Median	10,4	10,4	78928,8	79295,1	
SD	2,5	2,5	24861,8	24989,9	
Minimum	3,13	3,13	24603,5	24603,5	
Maximum	14,88	14,88	140294,3	140294,3	
I ₁ coefficient Box-Cox			17,124	17,124	
I ₂ coefficient Box-Cox			3,805	3,805	
P-Value Anderson-Darling/	0,013		0,508		
Symmetry test for Robust		0,537		0,609	
Outliers Dixon					
Outliers Tukey	0	0	0	0	
Suspect data Tukey	1	1	0	0	
Lower limit of reference interval	5,2	5,5	4,2	4,2	3,6
Upper limit of reference interval	15,0	15,3	14,2	14,2	13,7
90% CI for lower limit	4,4	4,7	2,8	2,9	3,1
	6,1	6,2	5,3	5,3	5,9
90% CI for upper limit	14,5	14,6	13,7	13,7	13,6
	15,5	16,0	14,5	14,6	14,9
Comments					
The sample size is large enough to compute the nonparametric reference interval : [3,6 ; 13,7].					
The confidence intervals of the limits of the nonparametric reference interval was determined using a bootstrap method.					
The 90% CI of one (or more) limit is larger than recommended in IFCC-CLSI C28-A3.					





Apêndice B - Análises dos valores para hemoglobina do sangue de 119 indivíduos de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) geradas pelo *Reference Value Advisor* v2.1 (GÉFFRE et al., 2009).

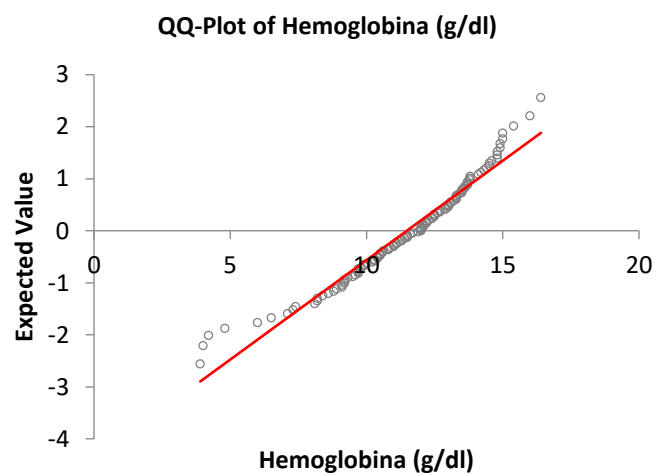
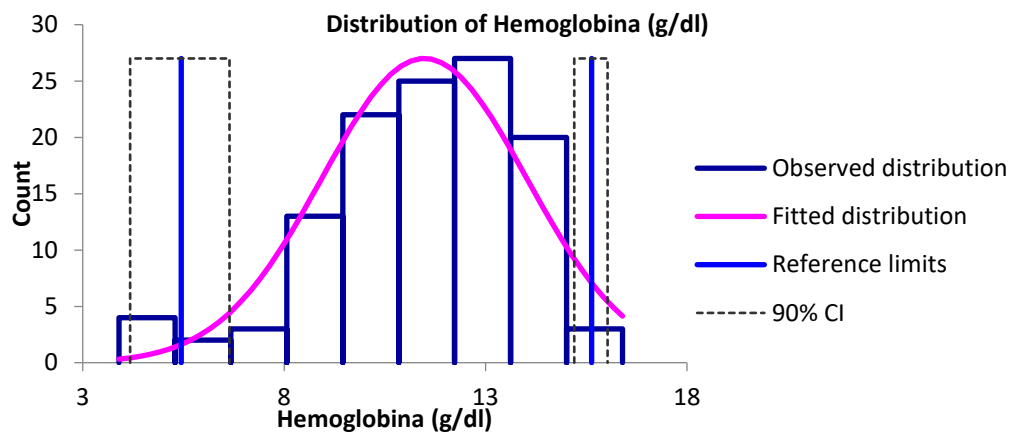
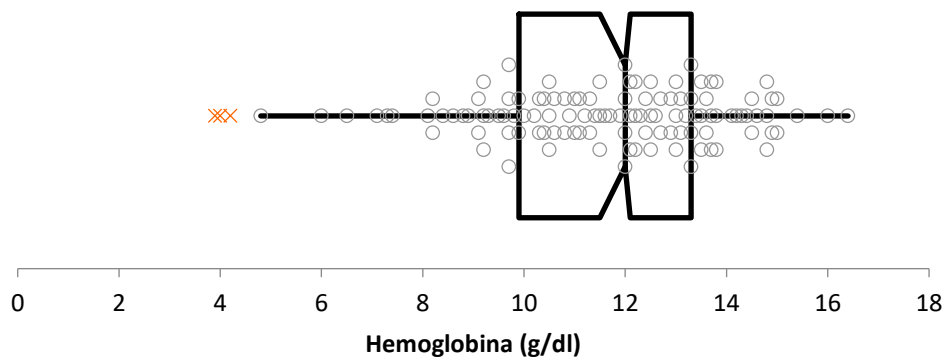
<u>Reference Value</u> <u>Advisor</u> v2.1		Results for Hemoglobina (g/dl)			
Method	Untransformed data		Box-Cox transformed data		Nonparametric
	Standard	Robust	Standard	Robust	
N	119	119	119	119	119
Mean	11,5		21708398328,4		
Median	12,0	11,8	22274227091,8	21765012180,9	
SD	2,5	2,6	6024824336,7	6080938155,8	
Minimum	3,9	3,9	7866252879,0	7866252879,0	
Maximum	16,4	16,4	36794928847,5	36794928847,5	
I ₁ coefficient Box-Cox			42,223	42,223	
I ₂ coefficient Box-Cox			6,433	6,433	
P-Value Anderson-Darling/	0,010		0,896		
Symmetry test for Robust		0,084		0,059	
Outliers Dixon					
Outliers Tukey	0	0	0	0	
Suspect data Tukey	3	3	0	0	
Lower limit of reference interval	6,4	6,6	5,4	5,4	4,2
Upper limit of reference interval	16,5	17,0	15,6	15,6	15,4
90% CI for lower limit	5,5	5,8	4,2	4,2	3,9
	7,3	7,5	6,6	6,6	7,1
90% CI for upper limit	16,0	16,1	15,2	15,2	14,9
	17,1	17,7	16,0	16,0	16,4

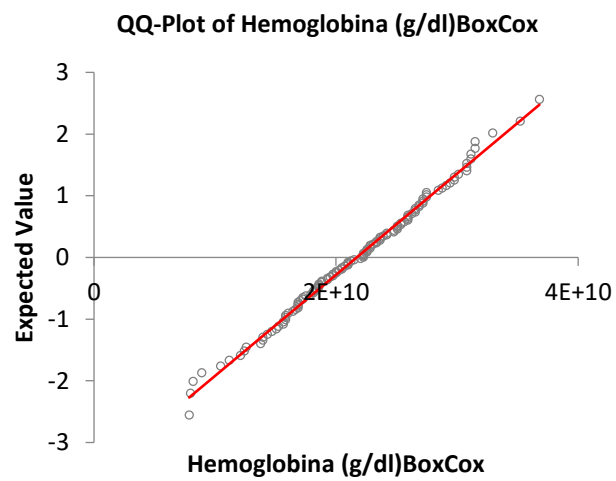
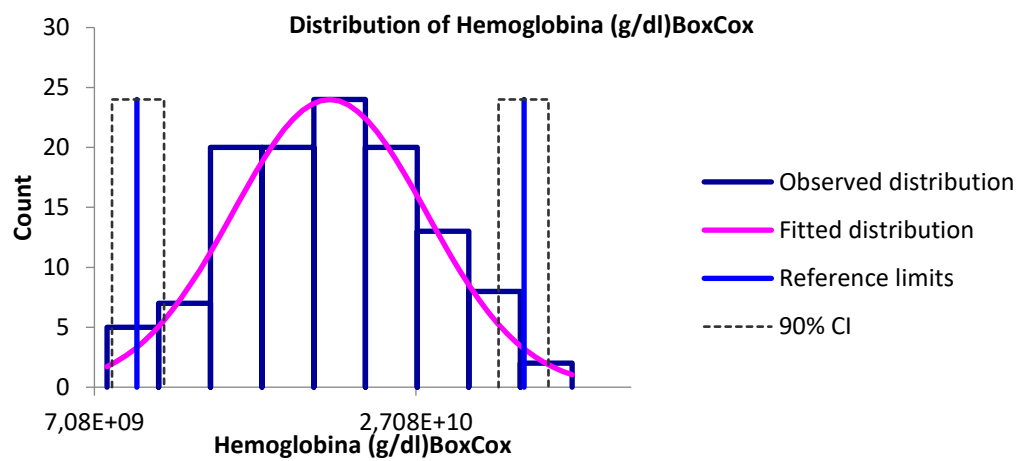
Comments

The sample size is large enough to compute the nonparametric reference interval : [4,2 ; 15,4].

The confidence intervals of the limits of the nonparametric reference interval was determined using a bootstrap method.

The 90% CI of one (or more) limit is larger than recommended in IFCC-CLSI C28-A3.





Apêndice C - Análises dos valores para hematócrito do sangue de 119 indivíduos de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) geradas pelo *Reference Value Advisor* v2.1 (GÉFFRE et al., 2009).

<u>Reference Value</u> <u>Advisor</u> v2.1	Results for Hematócrito (%)				
---	------------------------------------	--	--	--	--

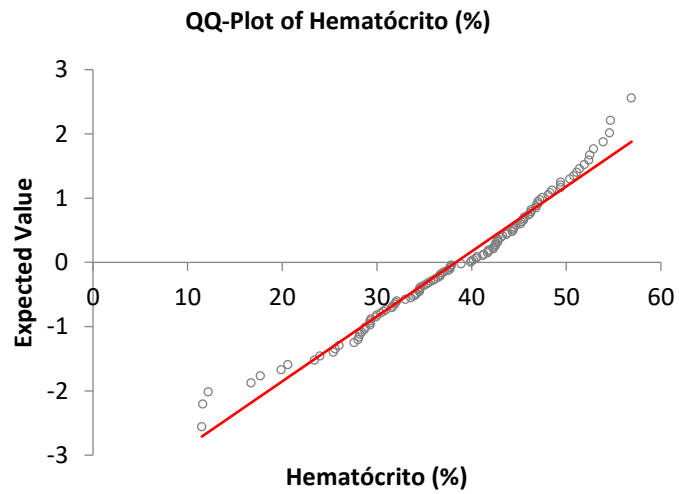
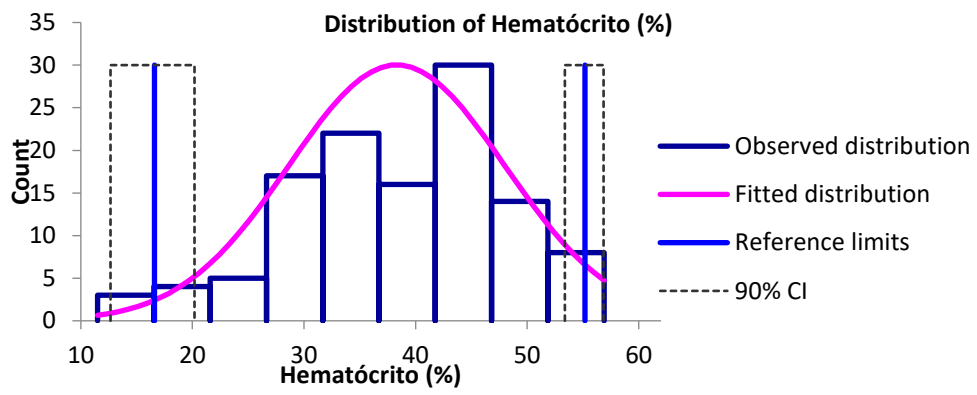
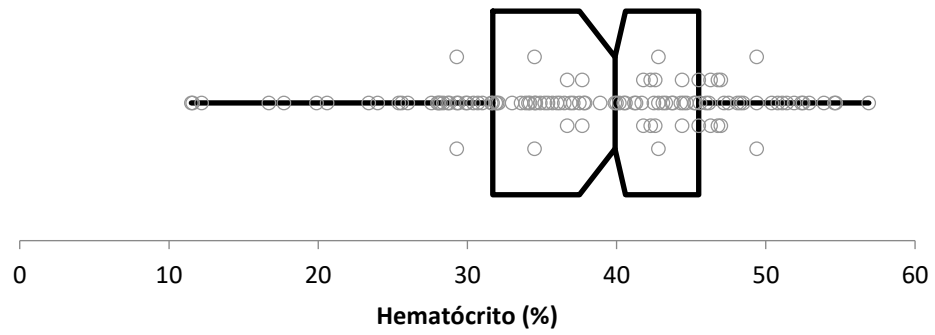
Method	Untransformed data		Box-Cox transformed data		Nonparametric
	Standard	Robust	Standard	Robust	
N	119	119	119	119	119
Mean	38,3		48878398,5		
Median	39,9	39,2	49801892,3	49036960,4	
SD	9,7	9,8	11234202,6	11328909,0	
Minimum	11,5	11,5	22846315,5	22846315,5	
Maximum	56,9	56,9	74278655,0	74278655,0	
I ₁ coefficient Box-Cox			112,881	112,881	
I ₂ coefficient Box-Cox			3,789	3,789	
P-Value Anderson-Darling/	0,054		0,509		
Symmetry test for Robust		0,391		0,260	
Outliers Dixon					
Outliers Tukey	0	0	0	0	
Suspect data Tukey	0	0	0	0	
Lower limit of reference interval	19,1	19,7	16,5	16,6	12,2
Upper limit of reference interval	57,6	58,7	55,0	55,2	54,6
90% CI for lower limit	16,8	16,8	12,4	12,7	11,5
	21,4	22,5	20,1	20,2	20,6
90% CI for upper limit	55,1	56,0	53,2	53,4	52,4
	59,9	61,5	56,9	56,8	56,9

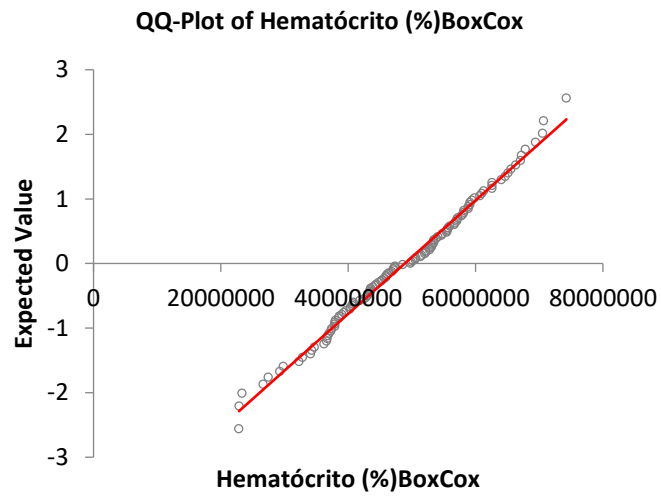
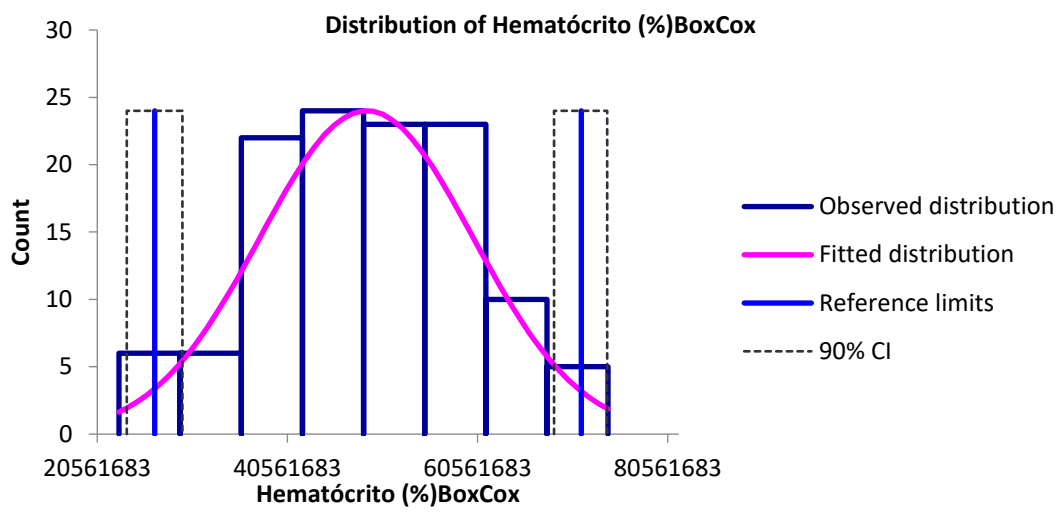
Comments

The sample size is large enough to compute the nonparametric reference interval : [12,2 ; 54,6].

The confidence intervals of the limits of the nonparametric reference interval was determined using a bootstrap method.

The 90% CI of one (or more) limit is larger than recommended in IFCC-CLSI C28-A3.





Apêndice D - Análises dos valores para VCM do sangue de 117 indivíduos de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) geradas pelo *Reference Value Advisor* v2.1 (GÉFFRE et al., 2009).

<u>Reference Value</u> <u>Advisor</u> v2.1		Results for VCM (fl)			
Method	Untransformed data		Box-Cox transformed data		Nonparametric
	Standard	Robust	Standard	Robust	
N	117	117	117	117	117
Mean	38,1		13374428,8		
Median	38,2	38,2	13304083,4	13395296,3	
SD	1,6	1,6	2647856,4	2661509,9	
Minimum	33,6	33,6	7057022,3	7057022,3	
Maximum	42	42	21257263,8	21257263,8	
I_1 coefficient Box-Cox			0,000	0,000	
I_2 coefficient Box-Cox			4,942	4,942	
P-Value Anderson-Darling/	0,061		0,620		
Symmetry test for Robust		0,003		0,000	
Outliers Dixon					
Outliers Tukey	0	0	0	0	
Suspect data Tukey	1	1	1	1	
Lower limit of reference interval	35,0	35,1	34,6	34,6	34,3
Upper limit of reference interval	41,3	41,4	40,9	40,9	40,8
90% CI for lower limit	34,6 35,3	34,6 35,5	33,9 35,1	33,9 35,2	33,6 35,3
90% CI for upper limit	40,9 41,7	41,0 41,8	40,6 41,2	40,6 41,2	40,2 42,0

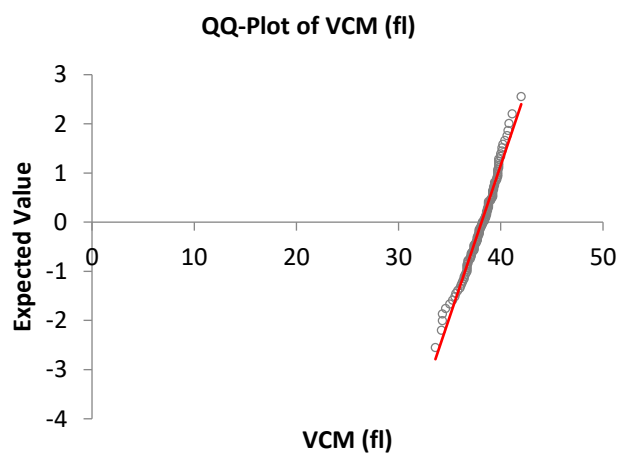
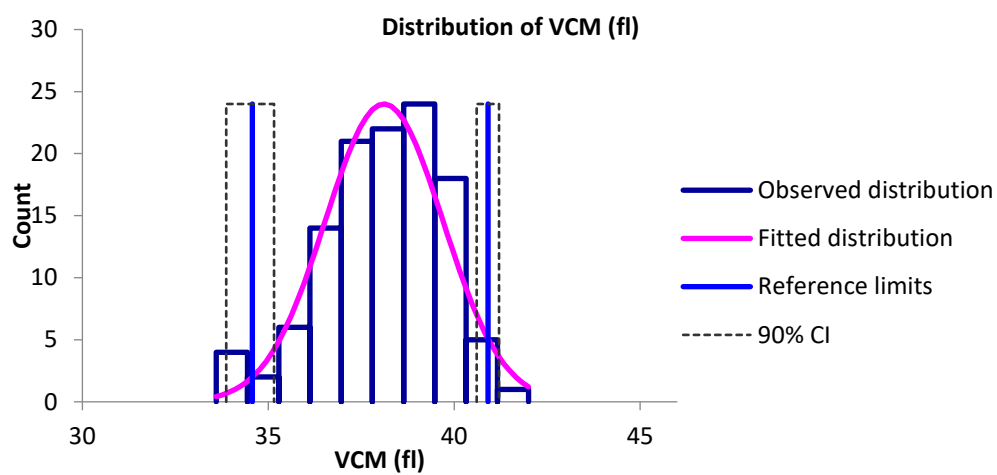
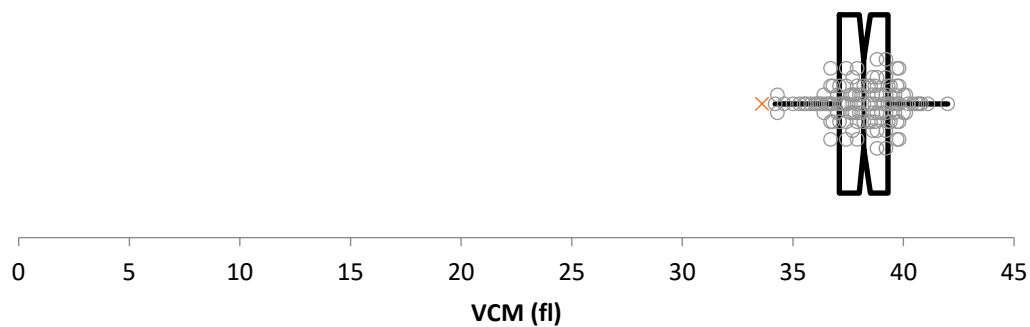
Comments

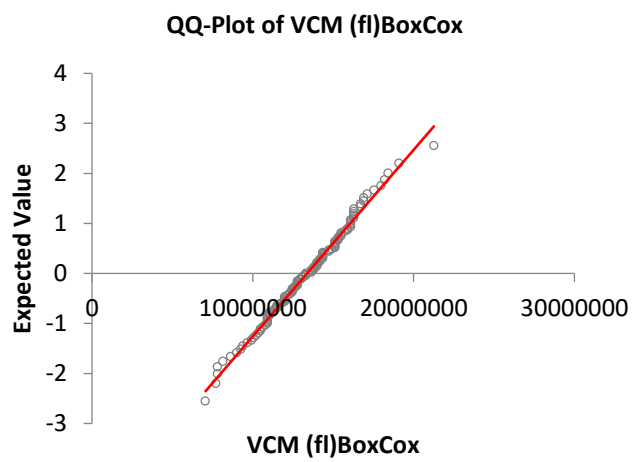
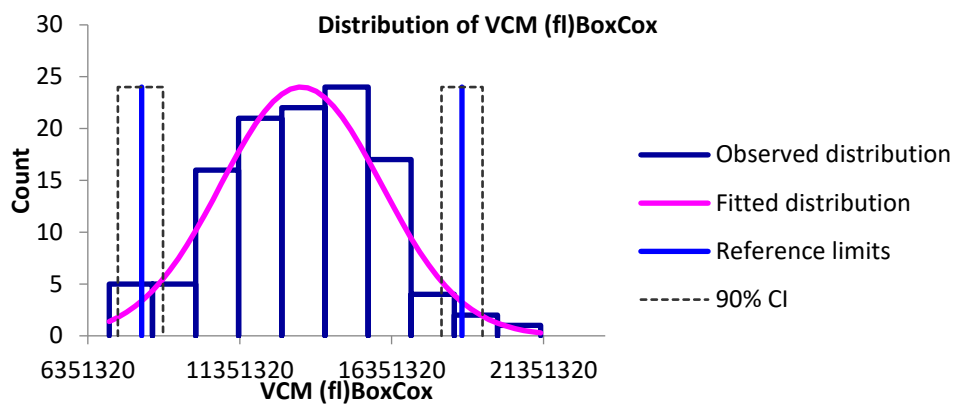
Suspect data detected according to Tukey. IFCC-CLSI C28-A3 recommends that unless these data are known to be aberrant observations, the emphasis should be on retaining rather than deleting them.

The sample size is large enough to compute the nonparametric reference interval : [34,3 ; 40,8].

The confidence intervals of the limits of the nonparametric reference interval was determined using a bootstrap method.

The 90% CI of one (or more) limit is larger than recommended in IFCC-CLSI C28-A3.





Apêndice E - Análises dos valores para CHCM do sangue de 117 indivíduos de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) geradas pelo *Reference Value Advisor* v2.1 (GÉFFRE et al., 2009).

<u>Reference Value Advisor v2.1</u>	Results for CHCM (%)				
---	-----------------------------	--	--	--	--

Method	Untransformed data		Box-Cox transformed data		Nonparametric
	Standard	Robust	Standard	Robust	
N	117	117	117	117	117
Mean	30,1		0,2		
Median	29,8	29,8	0,2	0,2	
SD	1,5	1,6	0,0	0,0	
Minimum	27,1	27,1	0,2	0,2	
Maximum	35,4	35,4	0,2	0,2	
I_1 coefficient Box-Cox			0,112	0,112	
I_2 coefficient Box-Cox			-5,435	-5,435	
P-Value Anderson-Darling/	0,000		0,380		
Symmetry test for Robust		0,000		0,000	
Outliers Dixon					
Outliers Tukey	2	2	0	0	
Suspect data Tukey	5	5	6	6	
Lower limit of reference interval	27,0	26,7	0,1	0,1	27,7
Upper limit of reference interval	33,1	32,9	0,1	0,1	34,5
90% CI for lower limit	26,6	26,1	0,1	0,1	27,1
	27,4	27,2	0,1	0,1	28,1
90% CI for upper limit	32,4	32,3	0,1	0,1	33,4
	33,8	33,4	0,1	0,1	35,4

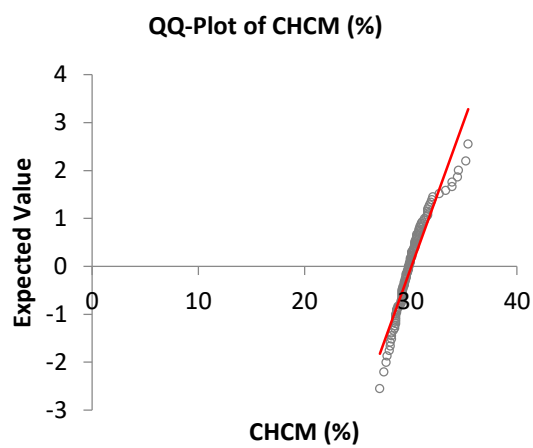
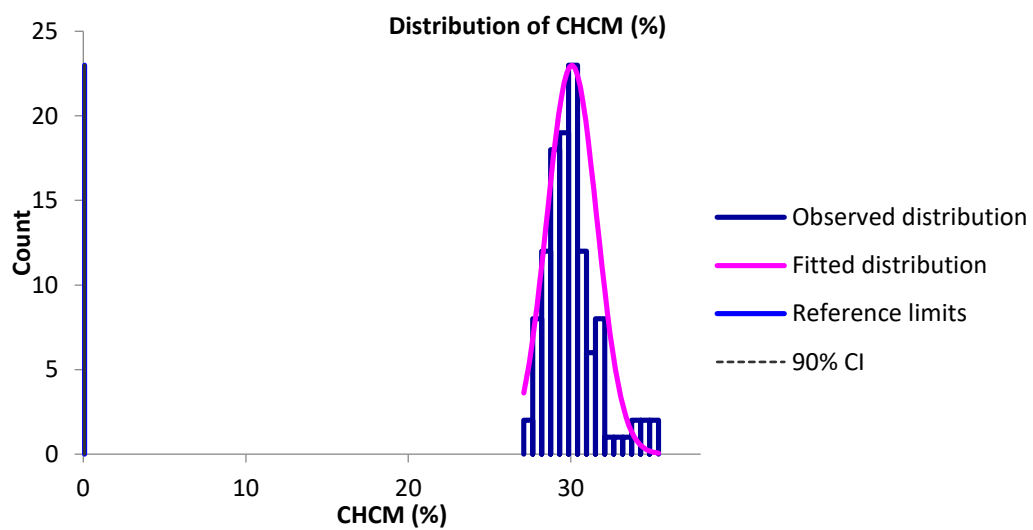
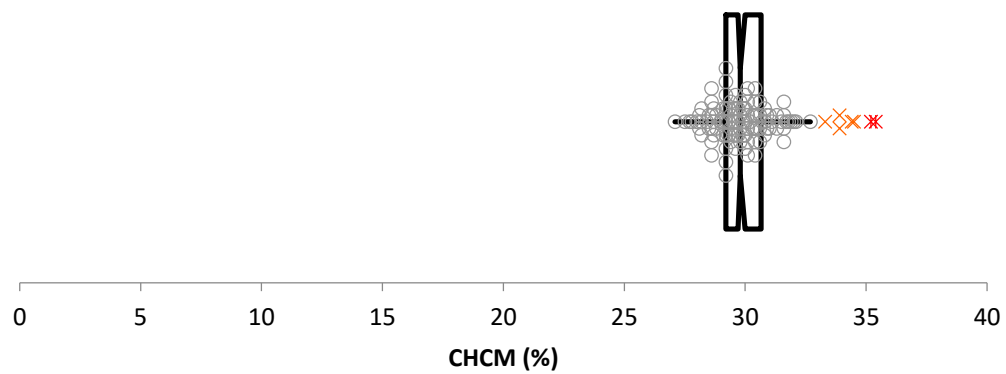
Comments

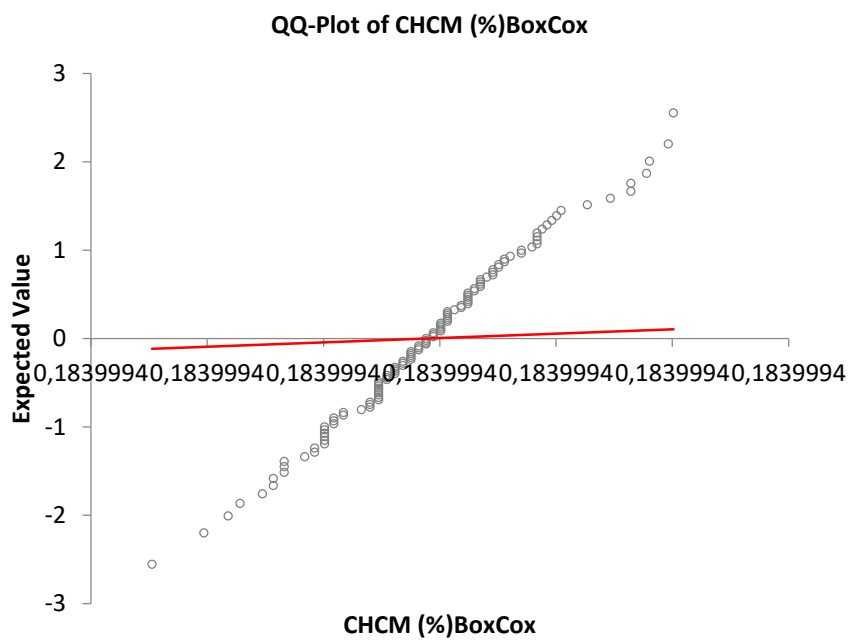
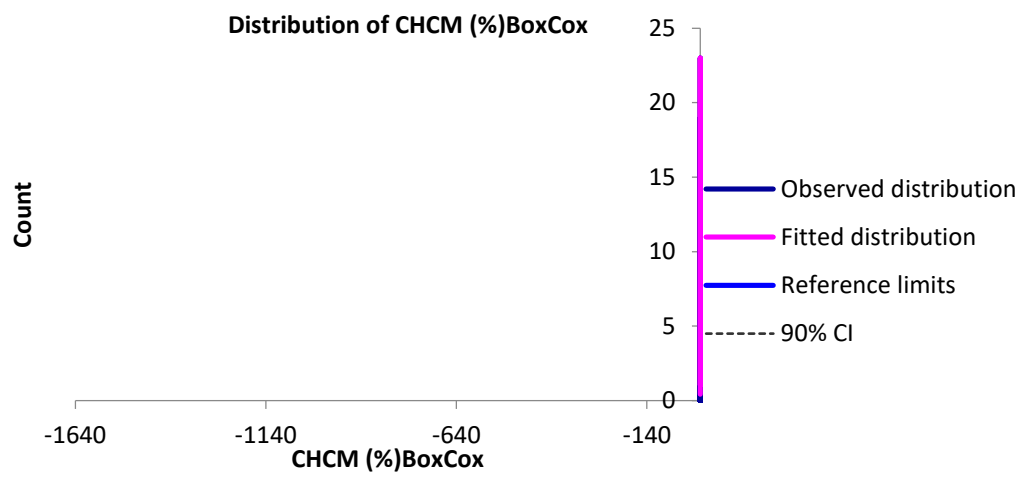
Suspect data detected according to Tukey. IFCC-CLSI C28-A3 recommends that unless these data are known to be aberrant observations, the emphasis should be on retaining rather than deleting them.

The sample size is large enough to compute the nonparametric reference interval : [27,7 ; 34,5].

The confidence intervals of the limits of the nonparametric reference interval was determined using a bootstrap method.

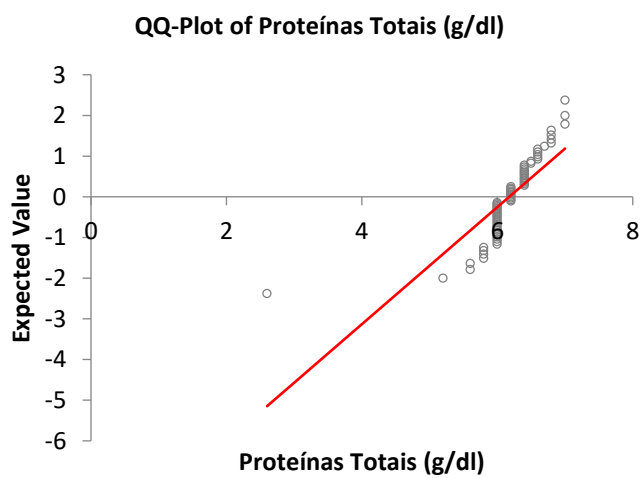
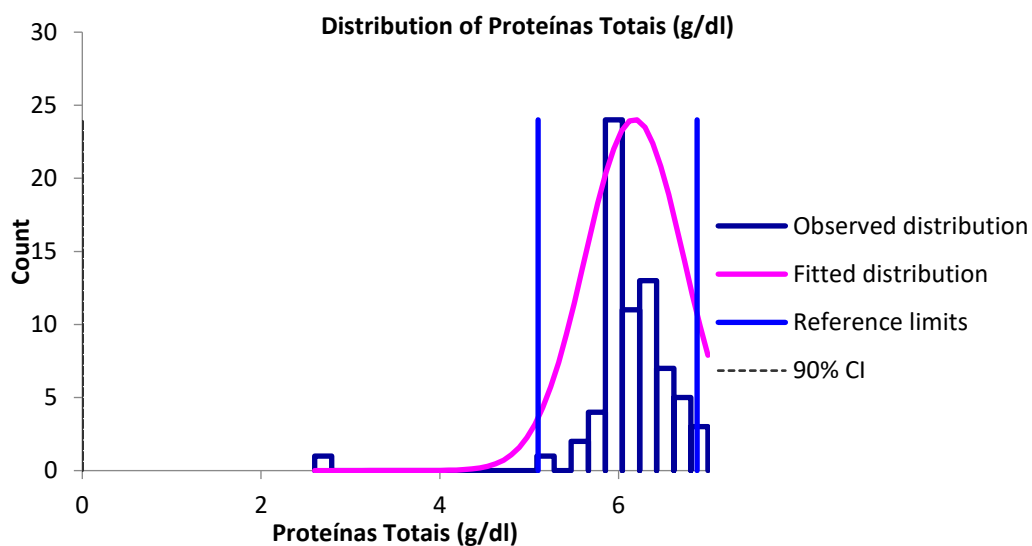
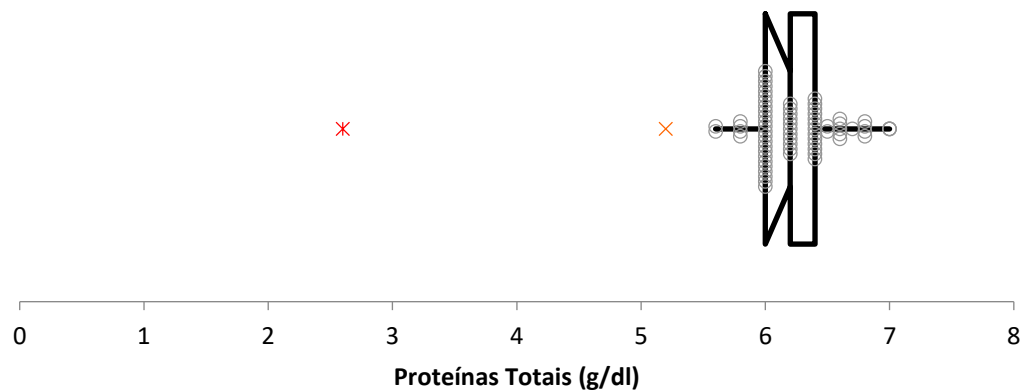
The 90% CI of one (or more) limit is larger than recommended in IFCC-CLSI C28-A3.

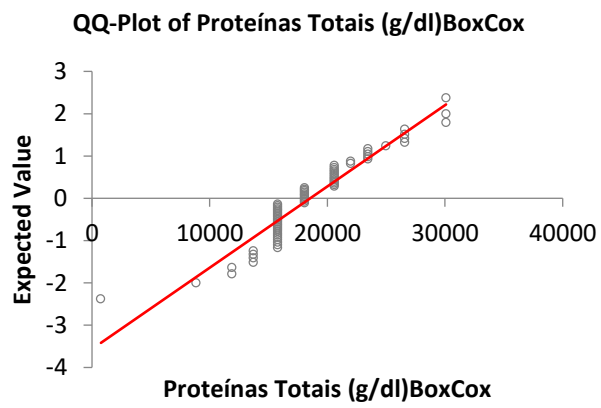
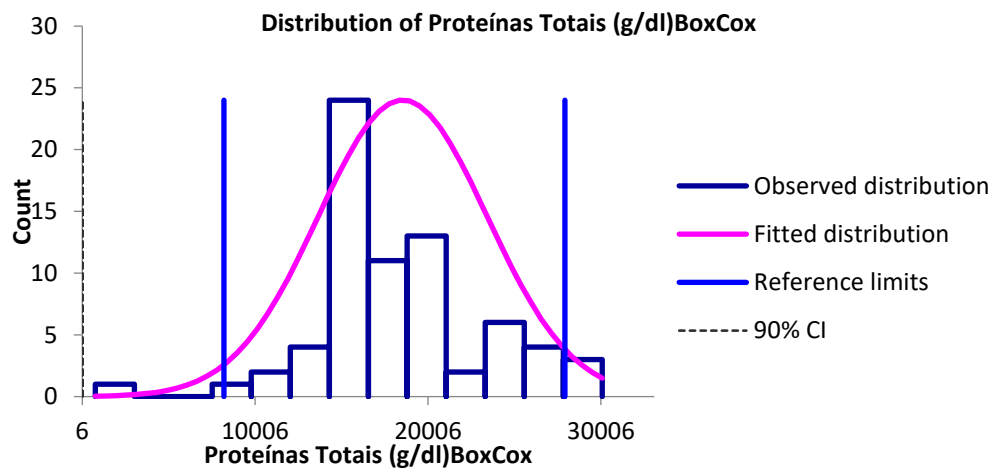




Apêndice F - Análises dos valores de PPT do sangue de 71 indivíduos de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) geradas pelo *Reference Value Advisor* v2.1 (GÉFFRE et al., 2009).

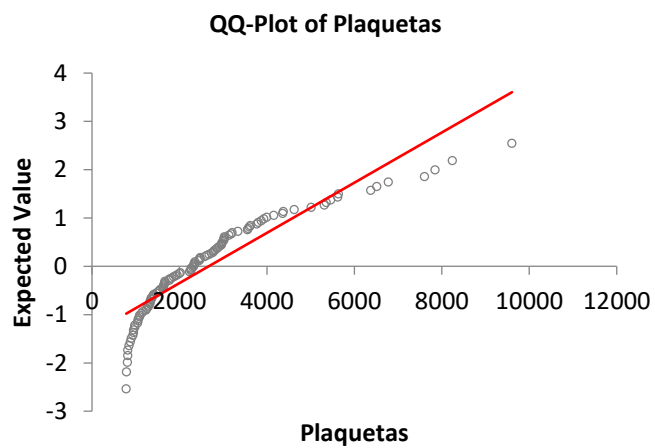
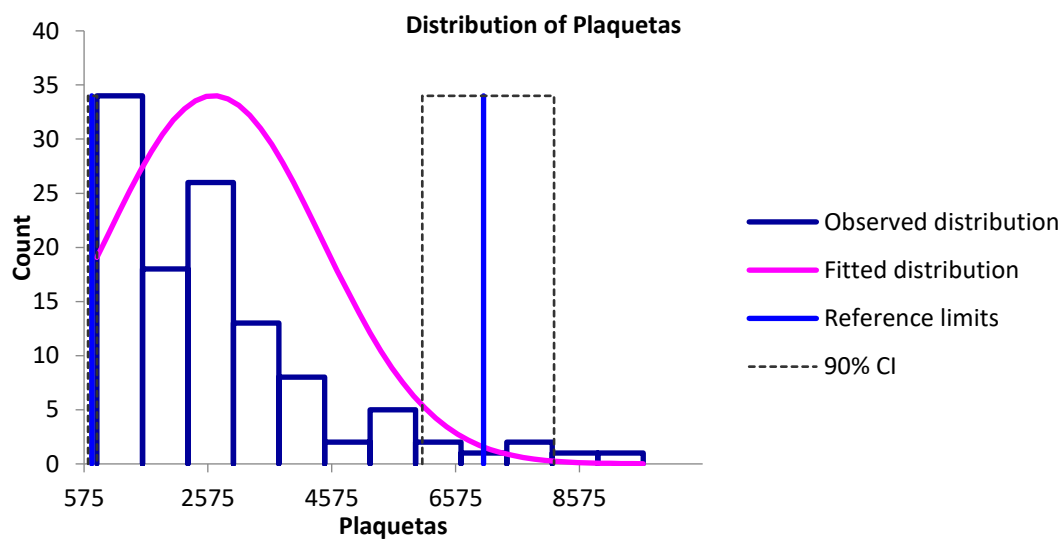
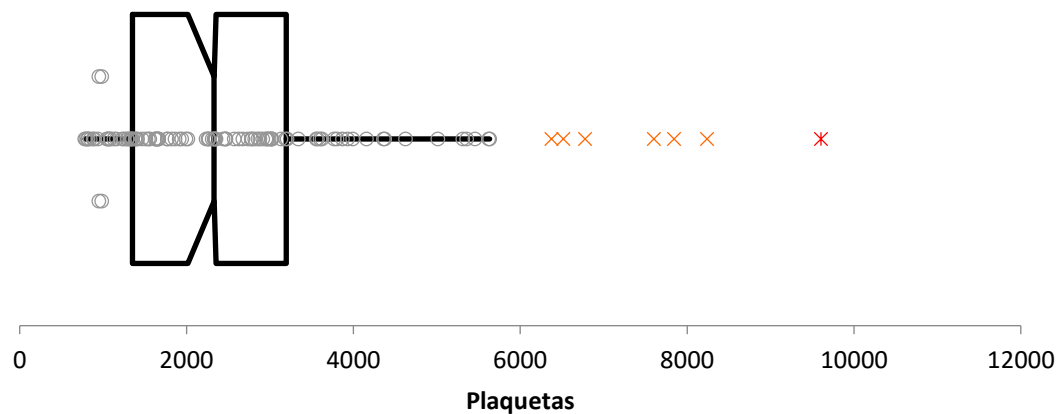
<u>Reference Value</u> <u>Advisor</u> v2.1		Results for Proteínas Totais (g/dl)			
Method	Untransformed data		Box-Cox transformed data		Nonparametric
	Standard	Robust	Standard	Robust	
N	71	71	71	71	71
Mean	6,2		18543,7		
Median	6,2	6,203974935	18064,0	18062,92604	
SD	0,6	0,552295206	4895,1	4945,030918	
Minimum	2,6	2,6	758,8	758,8	
Maximum	7	7	30084,3	30084,3	
I_1 coefficient Box-Cox			1,986	1,986	
I_2 coefficient Box-Cox			5,470	5,470	
P-Value Anderson-Darling/	0,000		0,000		
Symmetry test for Robust		0,000		0,000	
Outliers Dixon	Min	Min	Min	Min	
Outliers Tukey	1	1	1	1	
Suspect data Tukey	1	1	3	3	
Lower limit of reference interval	5,1	5,102456881	5,2	5,099593623	4,7
Upper limit of reference interval	7,3	7,30549299	6,9	6,878513881	7,0
90% CI for lower limit	4,5		4,8		2,6
	5,6		5,5		5,7
90% CI for upper limit	6,8		6,8		6,8
	7,7		7,0		7,0
Comments					
Possible outliers detected according to Tukey or Dixon. IFCC-CLSI C28-A3 recommends that unless outliers are known to be aberrant observations, the emphasis should be on retaining rather than deleting them.					
The sample size is large enough to compute the nonparametric reference interval : [4,7 ; 7].					
The confidence intervals of the limits of the nonparametric reference interval was determined using a bootstrap method.					
The 90% CI of one (or more) limit is larger than recommended in IFCC-CLSI C28-A3.					

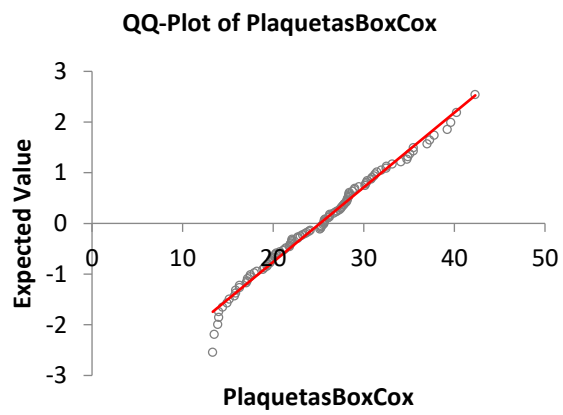
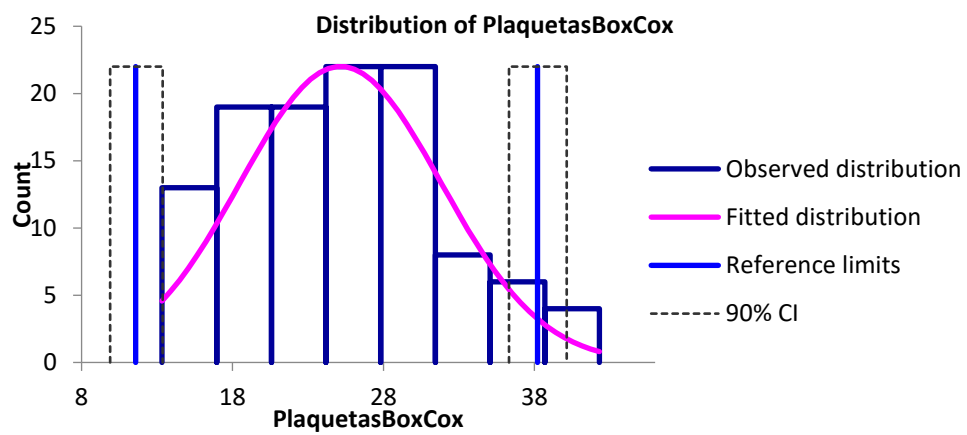




Apêndice G - Análises dos valores de contagem de plaquetas do sangue de 113 indivíduos de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) geradas pelo *Reference Value Advisor* v2.1 (GÉFFRE et al., 2009).

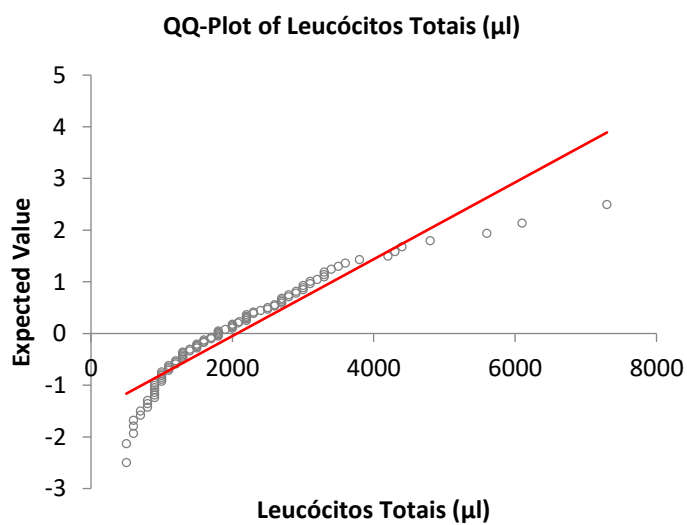
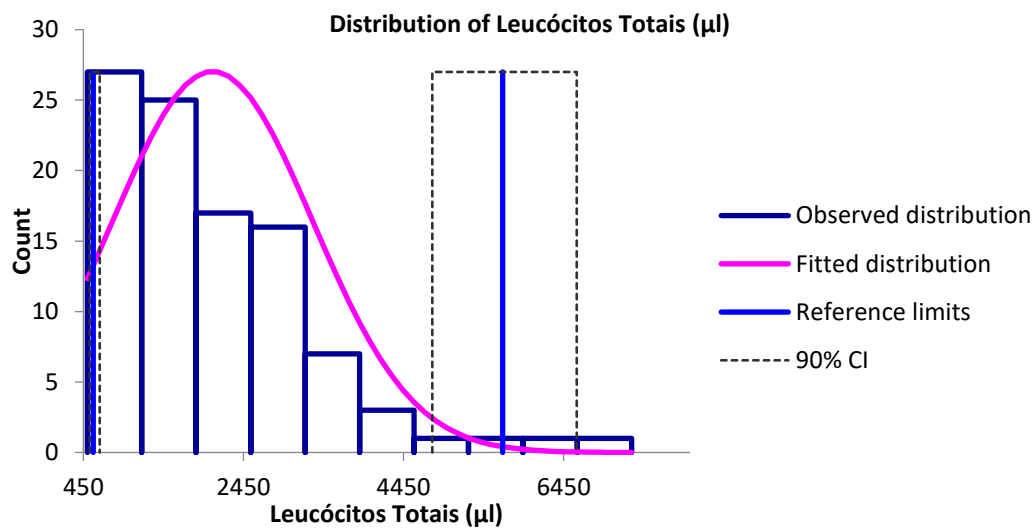
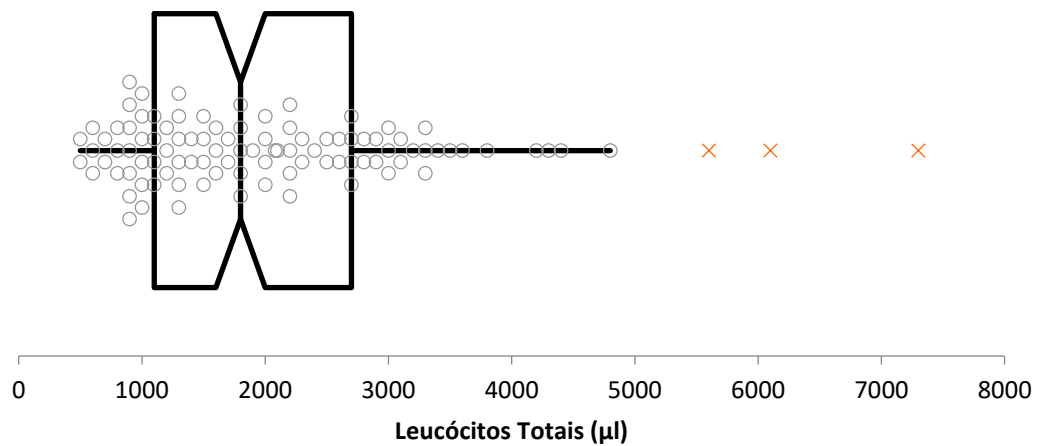
<u>Reference Value</u> <u>Advisor</u> v2.1		Results for Plaquetas			
Method	Untransformed data		Box-Cox transformed data		Nonparametric
	Standard	Robust	Standard	Robust	
N	113	113	113	113	113
Mean	2869,5		25,2		
Median	2329,0	2231,8	25,6	24,9	
SD	1755,7	1792,5	6,7	6,7	
Minimum	782	782	13,3	13,3	
Maximum	9605	9605	42,3	42,3	
I ₁ coefficient Box-Cox			-525,066	-525,066	
I ₂ coefficient Box-Cox			0,280	0,280	
P-Value Anderson-Darling/	0,000		0,323		
Symmetry test for Robust		0,015		0,149	
Outliers Dixon					
Outliers Tukey	1	1	0	0	
Suspect data Tukey	6	6	0	0	
Lower limit of reference interval	-824,5	-1319,9	712,0	699,3	809,7
Upper limit of reference interval	6163,6	5783,4	7151,7	7026,4	7903,3
90% CI for lower limit	-1232,6	-2052,6	643,2	639,3	782,0
	-376,3	-666,4	810,4	785,0	870,0
90% CI for upper limit	5362,3	5106,0	6240,7	6036,2	6517,0
	7109,3	6524,6	8291,8	8164,9	9605,0
Comments					
The sample size is large enough to compute the nonparametric reference interval : [809,7 ; 7903,3].					
The confidence intervals of the limits of the nonparametric reference interval was determined using a bootstrap method.					
The 90% CI of one (or more) limit is larger than recommended in IFCC-CLSI C28-A3.					

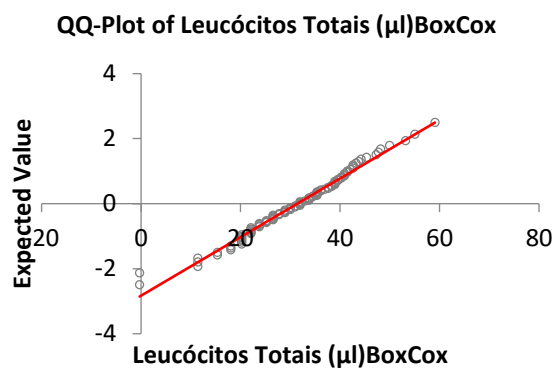
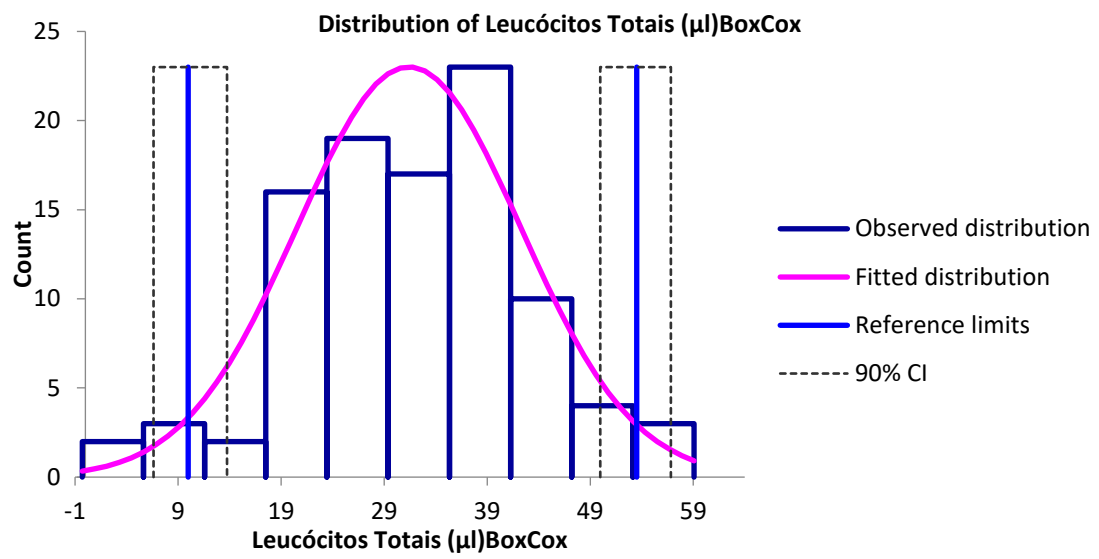




Apêndice H - Análises dos valores de leucócitos totais do sangue de 99 indivíduos de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) geradas pelo *Reference Value Advisor* v2.1 (GÉFFRE et al., 2009).

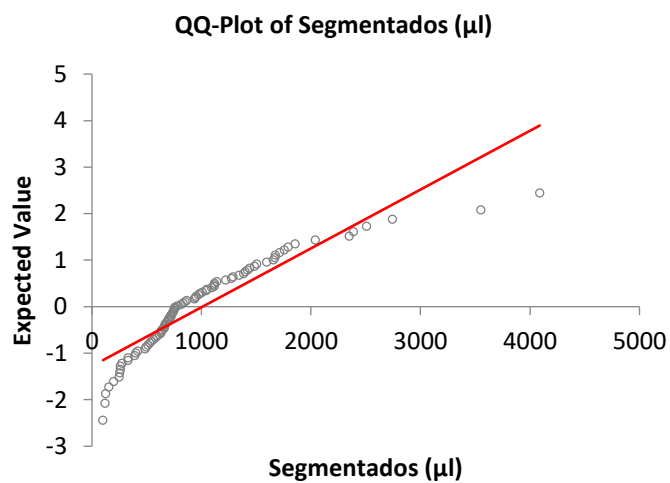
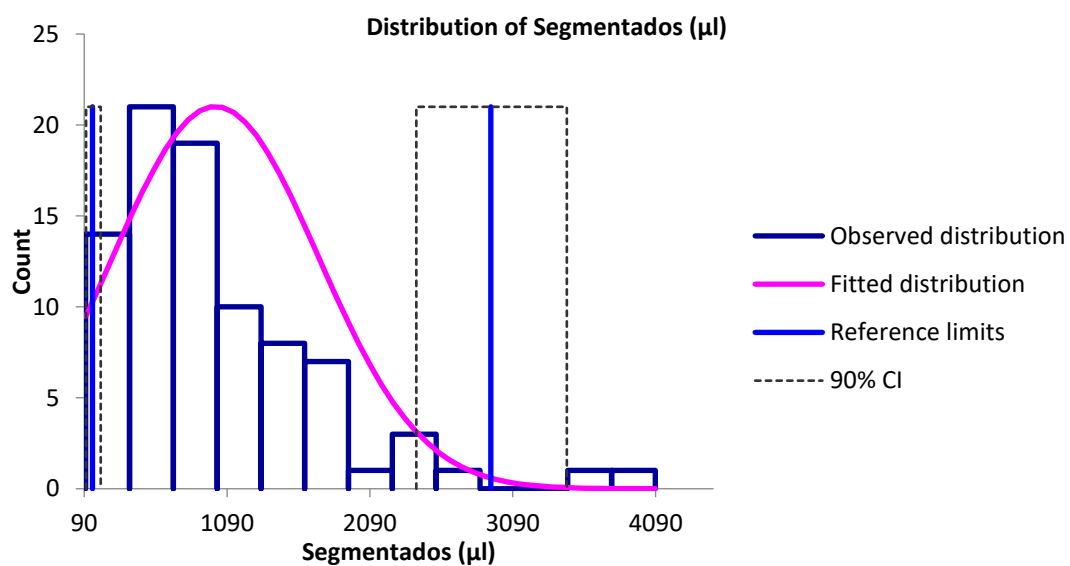
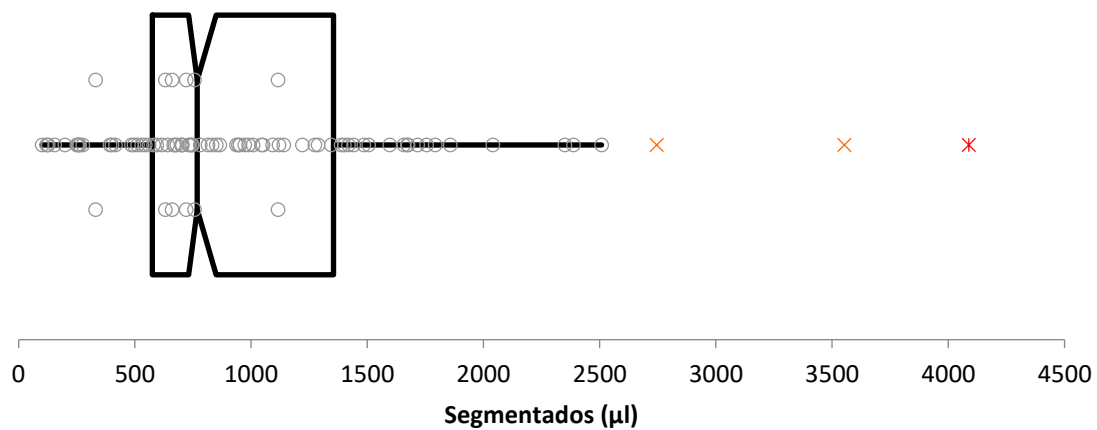
<u>Reference Value</u> <u>Advisor</u> v2.1		Results for Leucócitos Totais (µl)			
Method	Untransformed data		Box-Cox transformed data		Nonparametric
	Standard	Robust	Standard	Robust	
N	99	99	99	99	99
Mean	2065,5		31,4		
Median	1800,0	1857,1	32,0	31,7	
SD	1249,4	1282,1	10,9	11,0	
Minimum	500	500	-0,3	-0,3	
Maximum	7300	7300	59,1	59,1	
I ₁ coefficient Box-Cox			-499,268	-499,268	
I ₂ coefficient Box-Cox			0,348	0,348	
P-Value Anderson-Darling/	0,000		0,527		
Symmetry test for Robust		0,002		0,000	
Outliers Dixon					
Outliers Tukey	0	0	0	0	
Suspect data Tukey	3	3	2	2	
Lower limit of reference interval	-426,5	-687,1	568,3	573,3	550,0
Upper limit of reference interval	4557,4	4401,3	5588,4	5688,7	5850,0
90% CI for lower limit	-755,0	-1251,4	529,7	530,2	500,0
	-71,9	-192,5	630,4	654,1	650,0
90% CI for upper limit	3944,4	3837,1	4803,6	4810,0	4350,0
	5268,2	4968,0	6425,5	6614,1	7300,0
Comments					
Suspect data detected according to Tukey. IFCC-CLSI C28-A3 recommends that unless these data are known to be aberrant observations, the emphasis should be on retaining rather than deleting them.					
The sample size is large enough to compute the nonparametric reference interval : [550 ; 5850].					
The confidence intervals of the limits of the nonparametric reference interval was determined using a bootstrap method.					
The 90% CI of one (or more) limit is larger than recommended in IFCC-CLSI C28-A3.					

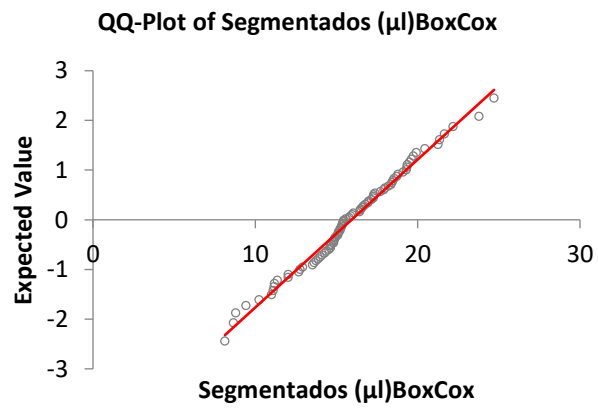
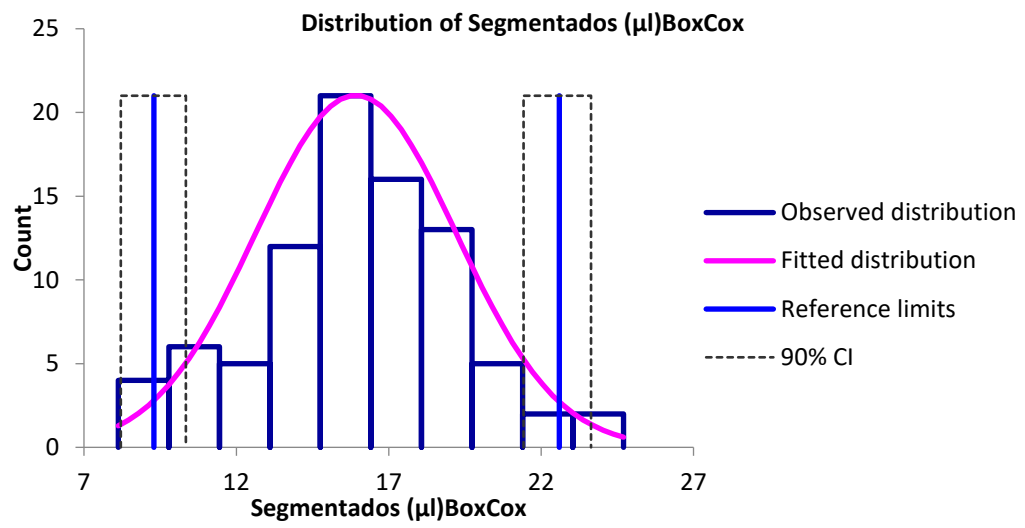




Apêndice I - Análises dos valores de neutrófilos segmentados do sangue de 86 indivíduos de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) geradas pelo *Reference Value Advisor* v2.1 (GÉFFRE et al., 2009).

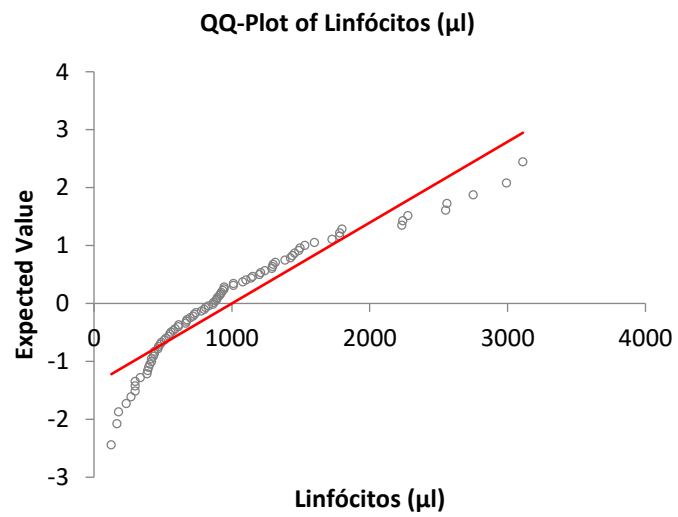
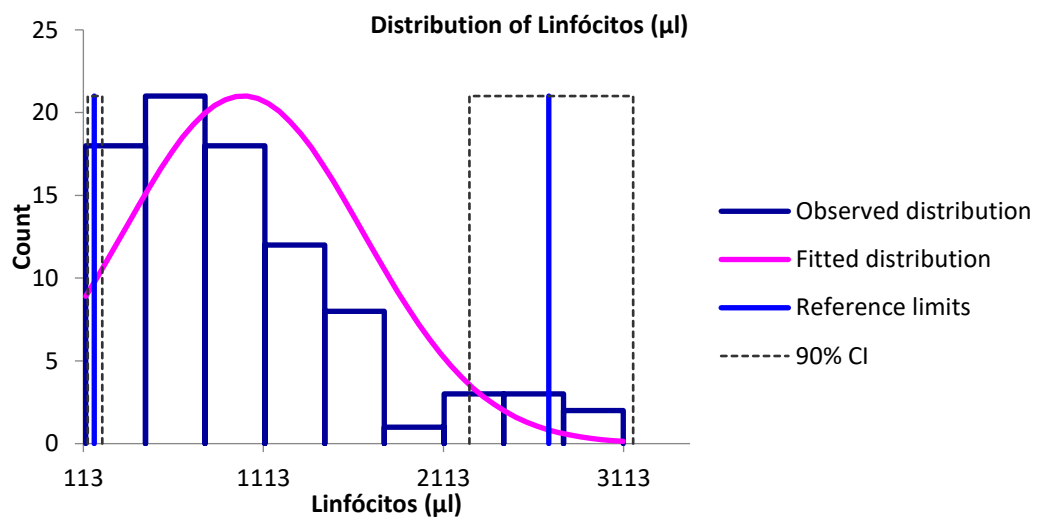
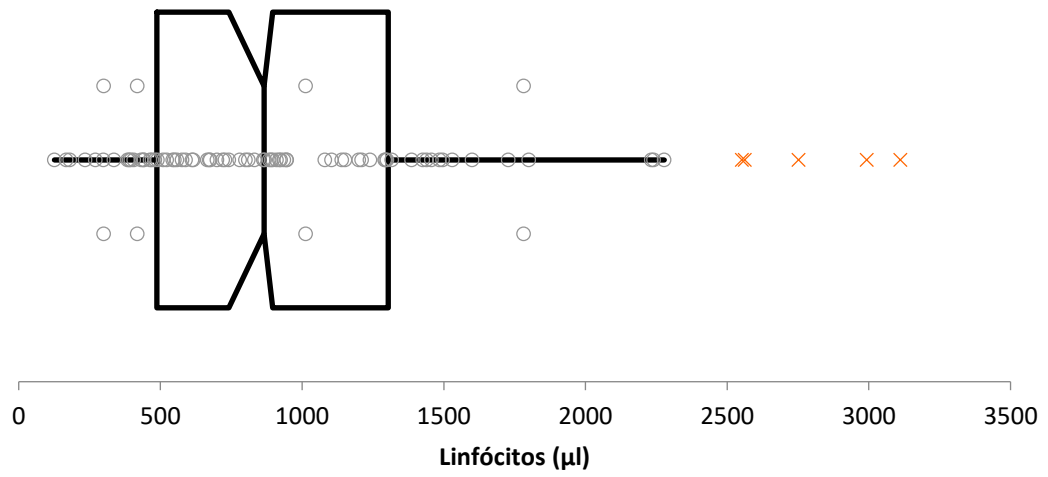
<u>Reference Value</u> <u>Advisor</u> v2.1		Results for Segmentados (µl)			
Method	Untransformed data		Box-Cox transformed data		Nonparametric
	Standard	Robust	Standard	Robust	
N	86	86	86	86	86
Mean	1009,3		15,9		
Median	768,0	838,4	15,5	15,9	
SD	720,3	762,1	3,3	3,3	
Minimum	100	100	8,1	8,1	
Maximum	4088	4088	24,7	24,7	
I_1 coefficient Box-Cox			0,000	0,000	
I_2 coefficient Box-Cox			0,227	0,227	
P-Value Anderson-Darling/	0,000		0,374		
Symmetry test for Robust		0,414		0,414	
Outliers Dixon					
Outliers Tukey	1	1	0	0	
Suspect data Tukey	2	2	2	2	
Lower limit of reference interval	-431,2	-676,8	149,4	148,0	121,1
Upper limit of reference interval	2449,6	2353,6	2900,3	2936,5	3410,8
90% CI for lower limit	-652,4 -187,8	-996,0 -305,9	103,7 206,4	102,9 204,5	100,0 208,0
90% CI for upper limit	2038,4 2885,6	1935,8 2720,3	2408,4 3453,3	2415,4 3468,5	2327,4 4088,0
Comments					
Suspect data detected according to Tukey. IFCC-CLSI C28-A3 recommends that unless these data are known to be aberrant observations, the emphasis should be on retaining rather than deleting them.					
The sample size is large enough to compute the nonparametric reference interval : [121,1 ; 3410,8].					
The confidence intervals of the limits of the nonparametric reference interval was determined using a bootstrap method.					
The 90% CI of one (or more) limit is larger than recommended in IFCC-CLSI C28-A3.					

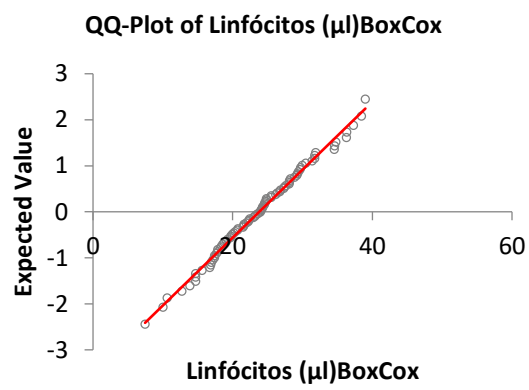
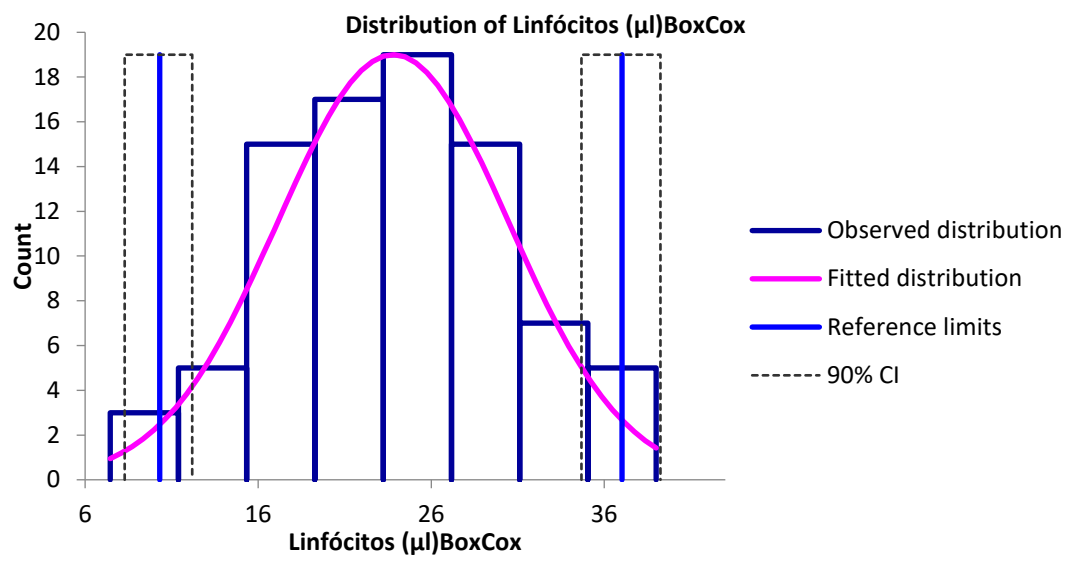




Apêndice J - Análises dos valores de linfócitos do sangue de 86 indivíduos de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) geradas pelo *Reference Value Advisor* v2.1 (GÉFFRE et al., 2009).

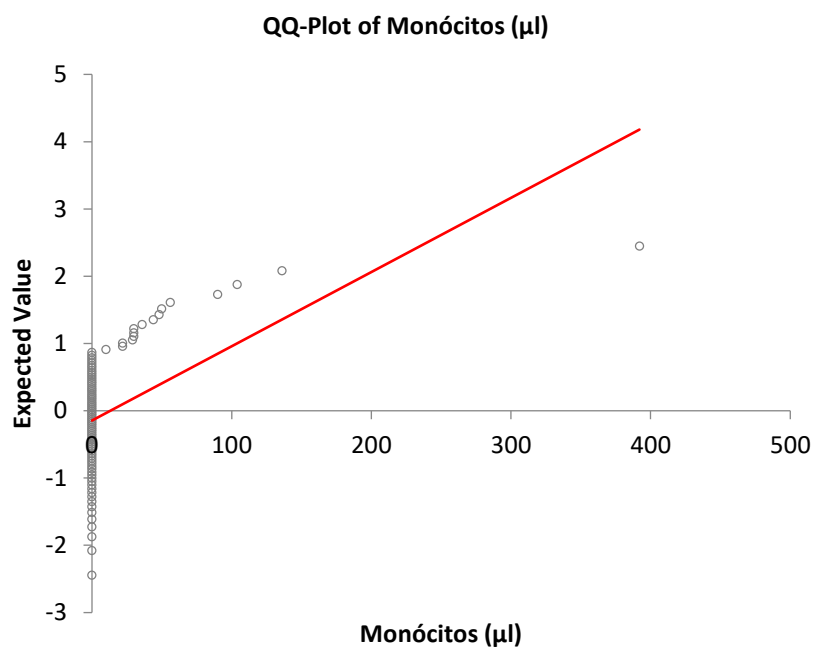
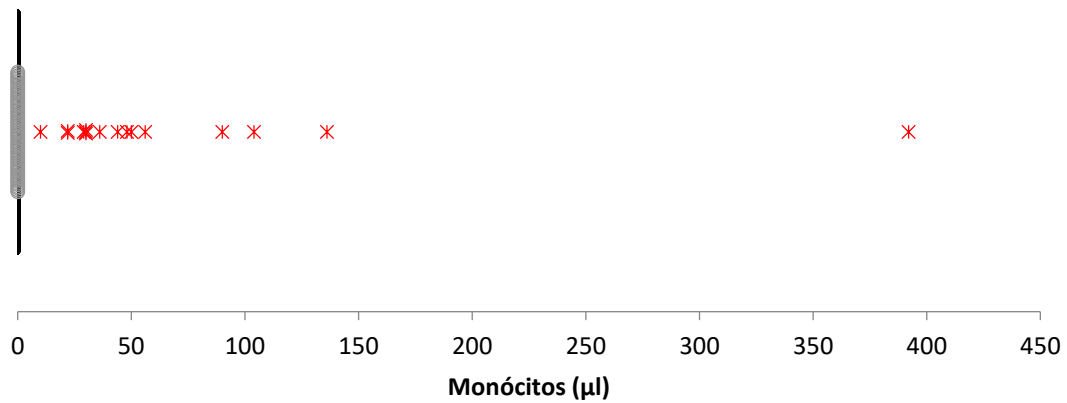
<u>Reference Value</u> <u>Advisor</u> v2.1		Results for Linfócitos (µl)			
Method	Untransformed data		Box-Cox transformed data		Nonparametric
	Standard	Robust	Standard	Robust	
N	86	86	86	86	86
Mean	1000,2		23,8		
Median	866,0	852,8	24,0	23,7	
SD	666,9	683,0	6,7	6,7	
Minimum	126	126	7,5	7,5	
Maximum	3111	3111	39,0	39,0	
I ₁ coefficient Box-Cox			-82,382	-82,382	
I ₂ coefficient Box-Cox			0,327	0,327	
P-Value Anderson-Darling/	0,000		0,893		
Symmetry test for Robust		0,742		0,332	
Outliers Dixon					
Outliers Tukey	0	0	0	0	
Suspect data Tukey	5	5	0	0	
Lower limit of reference interval	-333,6	-505,1	176,5	173,4	170,1
Upper limit of reference interval	2333,9	2210,8	2721,0	2697,5	2950,8
90% CI for lower limit	-479,7	-793,0	136,9	137,5	126,0
	-162,4	-273,2	229,1	218,6	275,3
90% CI for upper limit	2013,6	1925,4	2294,8	2257,0	2428,7
	2614,7	2516,1	3188,2	3166,0	3111,0
Comments					
The sample size is large enough to compute the nonparametric reference interval : [170,1; 2950,8].					
The confidence intervals of the limits of the nonparametric reference interval was determined using a bootstrap method.					
The 90% CI of one (or more) limit is larger than recommended in IFCC-CLSI C28-A3.					



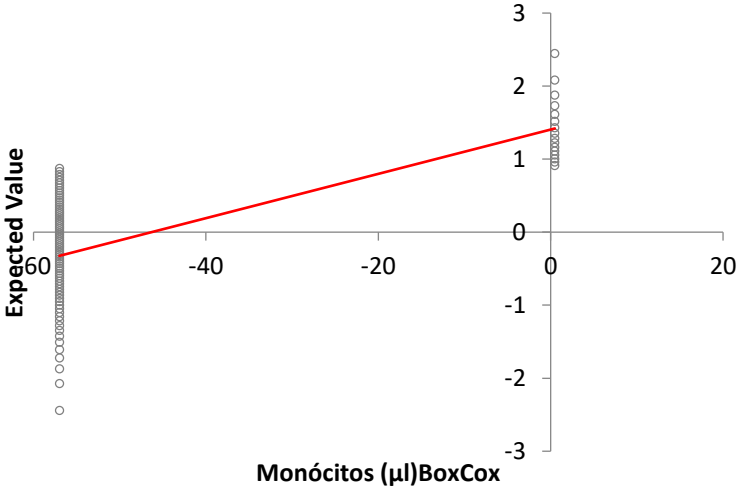


Apêndice L - Análises dos valores de monócitos do sangue de 86 indivíduos de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) geradas pelo *Reference Value Advisor* v2.1 (GÉFFRE et al., 2009).

<u>Reference Value</u> <u>Advisor</u> v2.1		Results for Monócitos (µl)			
Method	Untransformed data		Box-Cox transformed data		Nonparametric
	Standard	Robust	Standard	Robust	
N	86	86	86	86	86
Mean	13,1		-46,3		
Median	0,0	0	-57,0	-57,00070796	
SD	47,5		22,5		
Minimum	0	0	-57,0	-57,0	
Maximum	392	392	0,5	0,5	
I ₁ coefficient Box-Cox			0,100	0,100	
I ₂ coefficient Box-Cox			-2,077	-2,077	
P-Value Anderson-Darling/	0,000		0,000		
Symmetry test for Robust		0,000		0,000	
Outliers Dixon	Max	Max			
Outliers Tukey	16	16	16	16	
Suspect data Tukey	0	0	0	0	
Lower limit of reference interval	-61,9		0,0		0,0
Upper limit of reference interval	108,2		0,4		130,4
90% CI for lower limit	-126,4		0,0		0,0
	-29,1		0,0		0,0
90% CI for upper limit	42,0		0,1		54,6
	171,1		ND		392,0
Comments					
Possible outliers detected according to Tukey or Dixon. IFCC-CLSI C28-A3 recommends that unless outliers are known to be aberrant observations, the emphasis should be on retaining rather than deleting them.					
The sample size is large enough to compute the nonparametric reference interval : [0 ; 130,4].					
The confidence intervals of the limits of the nonparametric reference interval was determined using a bootstrap method.					
The 90% CI of one (or more) limit is larger than recommended in IFCC-CLSI C28-A3.					



QQ-Plot of Monóцитos (μl)BoxCox



Apêndice M - Análises dos valores de eosinófilos do sangue de 86 indivíduos de *Tadarida brasiliensis* (Molossidae, Chiroptera) geradas pelo *Reference Value Advisor* v2.1 (GÉFFRE et al., 2009).

<u>Reference Value</u> <u>Advisor</u> v2.1	Results for Eosinófilos (µl)				
---	-------------------------------------	--	--	--	--

Method	Untransformed data		Box-Cox transformed data		Nonparametric
	Standard	Robust	Standard	Robust	
N	86	86	86	86	86
Mean	219,9		6,8		
Median	147,5	166,3	7,5	7,9	
SD	239,1	250,4	3,8	3,9	
Minimum	0	0	-1,9	-1,9	
Maximum	1568	1568	13,7	13,7	
I ₁ coefficient Box-Cox			0,100	0,100	
I ₂ coefficient Box-Cox			0,155	0,155	
P-Value Anderson-Darling/	0,000		0,000		
Symmetry test for Robust		0,002		0,668	
Outliers Dixon	Max	Max			
Outliers Tukey	1	1	0	0	
Suspect data Tukey	1	1	10	10	
Lower limit of reference interval	-258,2	-329,6	0,3	1,2	0,0
Upper limit of reference interval	699,1	666,2	1697,9	2815,4	796,5
90% CI for lower limit	-372,2	-502,4	0,0	0,2	0,0
	-146,9	-181,5	2,4	4,5	0,0
90% CI for upper limit	528,2	496,7	1421,6	1836,5	624,0
	885,2	835,2	2350,0	3876,8	1568,0

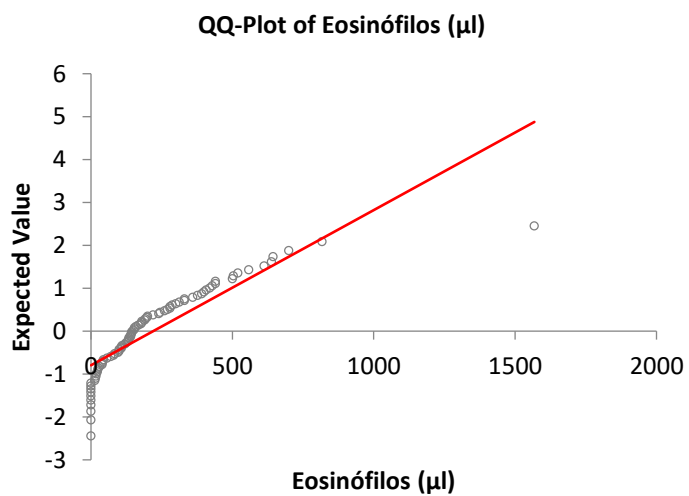
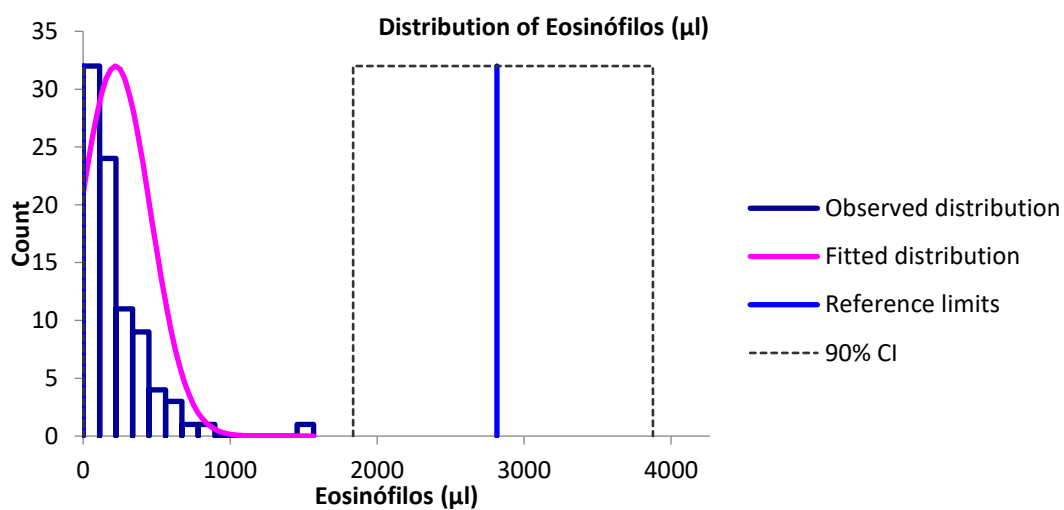
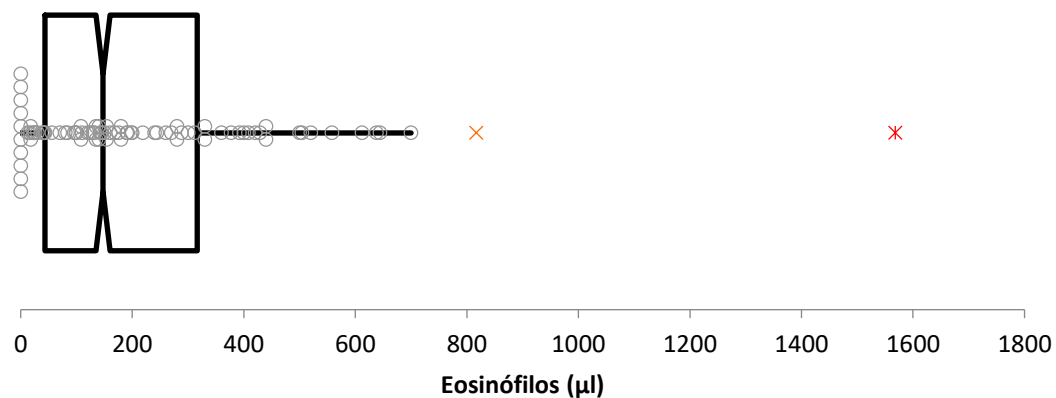
Comments

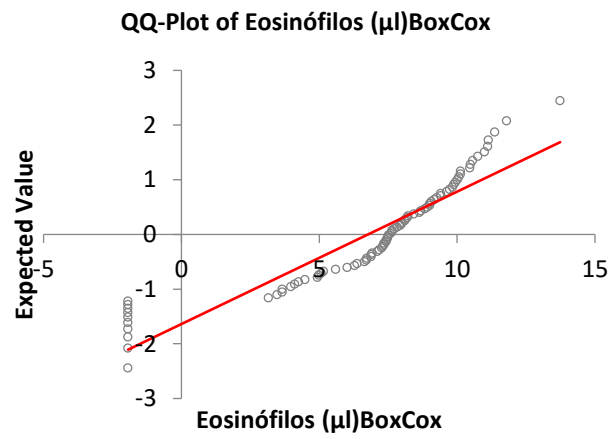
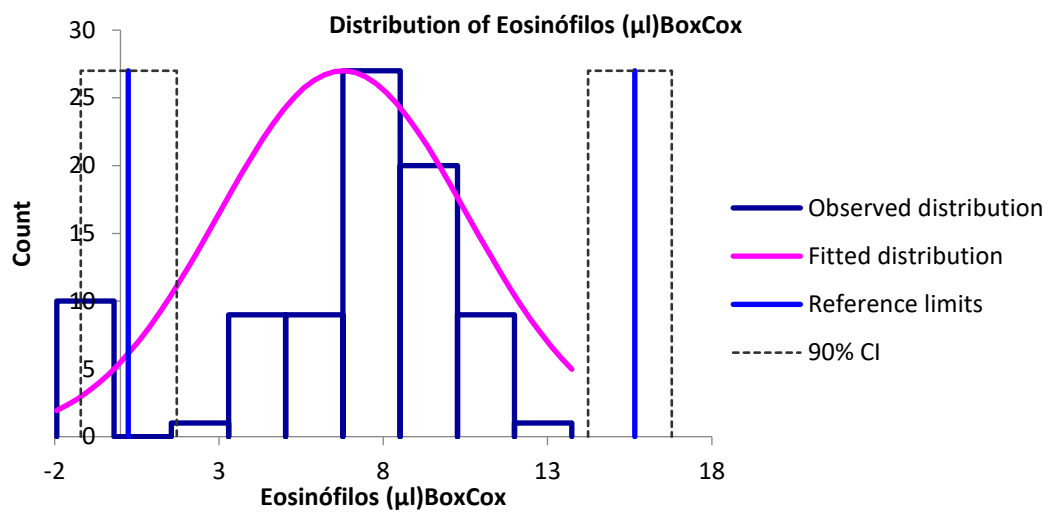
Suspect data detected according to Tukey. IFCC-CLSI C28-A3 recommends that unless these data are known to be aberrant observations, the emphasis should be on retaining rather than deleting them.

The sample size is large enough to compute the nonparametric reference interval : [0 ; 796,5].

The confidence intervals of the limits of the nonparametric reference interval was determined using a bootstrap method.

The 90% CI of one (or more) limit is larger than recommended in IFCC-CLSI C28-A3.





Apêndice N – Parecer do Comitê de Ética e Experimentação Animal

08/09/2020

SEI/UFPEL - 1019710 - Parecer



PARECER Nº
PROCESSO Nº

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
95/2020/CEEA/REITORIA
23110.031979/2019-34

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “Padrão Clínico Hematológico de *Tadarida brasiliensis* (Mammalia, Chiroptera) no Extremo Sul do Brasil”, registrada com o nº 23110.031979/2019-34, sob a responsabilidade de **Paulo Mota Bandarra** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de **07 de agosto de 2020**.

Finalidade	(x) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	10/08/2020 a 06/06/2021
Número da Solicitação ou Autorização SISBIO	52646-1
Nº de animais	384
Atividade (s)	Captura e coleta de sangue
Espécie/Grupos Taxonômicos	<i>Tadarida brasiliensis</i>
Local (is)	Colônias nos municípios de Capão do Leão e Pelotas

Código para cadastro nº CEEA 31979-2019

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA



Documento assinado eletronicamente por **ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX, Médico Veterinário**, em 10/08/2020, às 10:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1019710** e o código CRC **C8B45CBA**.