

Fototerapia vascular sistêmica (660 nm) no desenvolvimento de *P.guttatus* em cativeiro

Systemic vascular phototherapy (660 nm) in the development of *P. guttatus* in captivity

Fototerapia vascular sistêmica (660 nm) en el desarrollo de *P. guttatus* en cautiverio

Recebido: 17/11/2024 | Revisado: 24/11/2024 | Aceitado: 25/11/2024 | Publicado: 28/11/2024

Milena Scaglianti Brandão

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-6959-8688>

Universidade do Vale do Paraíba, Brasil

E-mail: milena.scaglianti@hotmail.com

Thiago Freitas de Campos de Maria

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-7039-0686>

Universidade do Vale do Paraíba, Brasil

E-mail: tfreitas686@gmail.com

Hanna Sibuya Kokubun

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3812-9419>

Núcleo de Pesquisa de Animais Silvestres - Universidade do Vale do Paraíba, Brasil

E-mail: hannamparana@gmail.com

Flavia Villaça Moraes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8576-9684>

Universidade do Vale do Paraíba, Brasil

E-mail: flavia@univap.br

Paulo Roxo Barja

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9009-3439>

Universidade do Vale do Paraíba, Brasil

E-mail: barja@univap.br

Henri Donnarumma Levy Bentubo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0091-2504>

Universidade Paulista, Brasil

E-mail: hbentubo@yahoo.com.br

Antonieta Marques Caldeira Zabeu

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0138-2250>

Vetlaser Fototerapia e Reabilitação, Brasil

E-mail: antonieta.zabeu@gmail.com

Resumo

A Cobra-do-milho (*Pantherophis guttatus* - Linnaeus, 1766) é uma espécie de serpente da família *Colubridae* de origem americana, e portanto, exótica no Brasil, sendo um bom exemplo de modelo experimental devido à sua adaptabilidade ao *terroir* nacional. Carnívoras, ovíparas e constritoras possuem desenvolvimento satisfatório em cativeiro quando em ambiente com parâmetros controlados e ideais de temperatura, umidade relativa do ar, luminosidade e alimentação, necessários para a manutenção fisiológica desta espécie. O uso de fototerapia em animais e humanos vem sendo demonstrada como um tratamento não invasivo, que contribui para a melhora da oxigenação tecidual sistêmica, reparo tecidual e, em consequência, biomodula o sistema orgânico e a imunidade, gerando efeitos positivos que refletem no desenvolvimento dos indivíduos. Este ensaio experimental teve como objetivo observar e comprovar se a fototerapia vascular sistêmica, transdérmica, promoveu benefícios e biomodulou o sistema orgânico de serpentes *P. guttatus* criadas em biotério, de modo a refletir no desenvolvimento, incremento da conversão alimentar, ganho de peso e comprimento corporal desta espécie.

Palavras-chave: Serpentes não peçonhentas; Crescimento em biotério; Fototerapia; Bioestatística.

Abstract

The Corn Snake (*Pantherophis guttatus* – Linnaeus, 1766) is a species of snake from the *Colubridae* Family of American origin, and therefore exotic in Brazil, being a good example of an experimental model due to its adaptability to the national *terroir*. Carnivores, oviparus and constrictors have satisfactory development in captivity when in an environment with controlled and ideal parameters of temperature, relative humidity, light and food, necessary for physiological maintenance of this species. The use of phototherapy in animals and humans has been demonstrated as a non-invasive treatment, which contributes to the improvement of systemic tissue oxygenation, tissue repair and, consequently, biomodulates the organic system and immunity, generating positive effects that reflect on the development of individuals. This experimental trial aimed to observe and prove whether systemic,

transcutaneous vasculas phototherapy promote benefits and biomodulated the organic system of *P. guttatus* snakes raised in animal facilities, in order to reflect on development, increased fees conversion, weight gain and length body oh this species.

Keywords: Non-venomous snakes; Development in captivity; Phototherapy; Biostatistics.

Resumen

La serpiente del maíz (*Pantherophis guttatus* – Linnaeus, 1766) es una espécie de serpiente de la familia *Colubridae* de origen americano, y por tanto exótica em Brasil, siendo um buen ejemplo de modelo experimental por su adaptabilidade al *terroir* nacional. Carnívoros, ovíparos y constrictores tienen um desarrollo satisfactorio cuando se encuentran em um ambiente com parâmetros controlados e ideales de temperatura, humedad relativa, luz y alimento, necesarios para el mantenimiento fisiológico de esta espécie. El uso de la fototerapia em animales y humanos há sido demostrado como um tratamiento no invasivo, que contribuye a la mejora de la oxigenación sistémica de los tejidos, la reparación de los tekidos, en consecuencia, biomodula el sistema orgânico y la inmunidad, generando efectos positivos que se reflejan em el desarrollo de individuos. Este ensayo experimental tuvo como objetivo observar y comprobar si la fototerapia vascular transcutánea sistémica promovió beneficios y biomoduló el sistema orgânico de serpientes *P. guttatus* criadas em instalaciones animales, com el fin de reflexionar sobre el desarrollo, el aumento de la conversión alimentícia, la ganancia de peso y la longitud corporal de esta espécie.

Palabras clave: Serpientes no venenosas; Desarrollo en cautiverio; Fototerapia; Bioestadística.

1. Introdução

A espécie *Pantherophis guttatus* foi descrita em 1766 pelo estudioso Linnaeus, chamada por *Corn snake*, cobra-do-milho, cobra-do-milharal ou *Elaphe guttata* [sinônimo] (Ruthven, *et al.*, 1917) é uma serpente advinda dos Estados Unidos da América e são constritoras da família *Colubridae*, apresentam a reprodução ovípara e como as demais serpentes são animais carnívoros e ectotérmicos, dependendo do meio externo para regular sua temperatura corporal, estimulando desta forma vários processos fisiológicos como a digestão do alimento (Batista, 2022; Flosi, *et al.*, 2001 apud Faria, *et al.*, 2014). “O comportamento alimentar é também influenciado pela luz, pois, se não há uma iluminação adequada, pode haver recusa do animal a alimentar-se, mesmo se a temperatura ambiental e outros fatores estiverem satisfatórios” (Flosi, *et al.*, 2001 apud Faria, *et al.*, 2014; Batista, 2022). Esse tipo de serpente consegue engolir presas maiores que sua cabeça por especialização anatômica: a mobilidade de mandíbula e a traqueia abaixo da língua que facilita a respiração enquanto o alimento é engolido (Faria, *et al.*, 2014). As cobras-do-milharal são um modelo de espécie adequado para estudos de desenvolvimento evolutivo dos escamados (Ullate-Agote, *et al.*, 2014) e foram elucidados em 8 gêneros *Elaphe*, diferentes de acordo com dados moleculares mantendo essa nomenclatura até novos estudos (Crother *et al.*, 2008; Bonett, 2017). Especialmente a *E. guttata* descoberta por Linnaeus (1776) é restrita à região leste do Mississipi (Crother *et al.*, 2008; Bonett *et al.*, 2017).

São consideradas uma espécie exótica invasora no Brasil, assim necessitam de condições ideais do meio para que tenham um desenvolvimento satisfatório em cativeiro (Faria, *et al.*, 2014). Podem chegar até 25 anos nas condições favoráveis de cuidados humanos com temperatura ambiental média entre 25.3°C e 29.7°C (10% menor à noite), umidade do ar relativa entre 30 e 70% (Mitchell, 2004), luminosidade artificial efetiva (Flosi, *et al.*, 2001) garantindo o ciclo circadiano e alimentação entre 10% (Campagner, 2011) e 30% do seu peso vivo (Batista, 2022) com variação de oferecimento da presa de acordo com a fase de desenvolvimento de serpente (Melgarejo-Gímenez, 2002). Campagner (2011) relembra que a obesidade é um fator comumente diagnosticado às serpentes mantidas em cativeiro devido à falta de movimentação nos biotérios e aos espaços reduzidos ao passo que o oferecimento incorreto do fotoperíodo artificial e a hipotermia, são causas de anorexia. Tais problemas de origem não infecciosas podem prejudicar a imunidade do indivíduo (Mitchell, 2004).

As aplicações de fototerapia com luz LASER ou LED têm criado espaço na medicina atual, embasada por robusta literatura científica experimental, de relatos de casos e estudos randomizados (Chiran, 2013) no tratamento de diversas patologias em humanos (Tomé, 2020; Khoo, 2014) e animais (Yatskevich, 2017). Apresenta diferentes técnicas de irradiação dos tecidos vivos, por exemplo, a terapia fotodinâmica, fototerapia pontual, laserpuntura e irradiação vascular sistémica transdérmica.

Este ensaio experimental teve como objetivo observar e comprovar se a fototerapia vascular sistêmica transdérmica, promoveu benefícios e biomodulou o sistema orgânico de serpentes *P. guttatus* criadas em biotério, de modo a refletir no desenvolvimento, incremento da conversão alimentar, ganho de peso e comprimento corporal desta espécie. A espécie *P. guttatus* criada em cativeiro com estabelecimento dos requisitos ambientais e alimentares condizentes à espécie, sofreram alguma alteração após o tratamento com fototerapia de 660 nm, através da técnica vascular sistêmica transdérmica; além de incluir, em campo científico, maiores referências na Medicina de Animais Selvagens.

2. Metodologia

Este estudo experimental exploratório, com abordagem qualitativa e quantitativo longitudinal, do tipo analítico controlado (Hocman, Nahas, Oliveira Filho & Ferreira, 2005; Pereira et al., 2018; Toassi & Petry, 2021). Realizam-se medições e uso de estatística descritiva (Shitsuka et al., 2014; Vieira, 2021) foi realizado na Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP – São José dos Campos, SP.

No estudo procura-se verificar se a fototerapia com LASER, através da técnica irradiação vascular sistêmica transdérmica pode promover alguma alteração no ganho de peso, conversão alimentar e comprimento de serpentes criadas em cativeiro.

As serpentes selecionadas para este estudo experimental são da espécie *Pantherophis guttatus*, mantidos sob a responsabilidade do Centro de Reabilitação de Animais Silvestres – CRAS, da Universidade do Vale do Paraíba – São José dos Campos/SP, e sob autorização nº 66975 da Secretaria do Meio Ambiente. A finalidade e objetivo do CRAS é receber e reabilitar animais em condições de tráfico, apreensão por maus tratos, guarda irregular e/ou feridos em vias públicas; conservação de espécies nativas e destinação de espécies exóticas para instituições de pesquisa, zoológicos e santuários.

Dezoito (18) indivíduos foram selecionados para esta pesquisa e foram elencados de acordo com o peso vivo compreendido entre 100 e 230 gramas, de ambos os sexos, todos em fase de desenvolvimento com aproximadamente 1 ano de vida e histórico de apreensão. Este estudo experimental foi autorizado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade do Vale do Paraíba (CEUA-UNIVAP) em 22/03/2022 sob o nº A02/CEUA2022.

Os animais foram alojados em biotério, que é uma sala de alvenaria com janelas teladas, que abriga individualmente cada uma das serpentes em caixas plásticas de mesmo tamanho e volume, mantidas em estante, em condições ambientais adequadas à espécie de temperatura média de 25.7°C e umidade relativa do ar a 50,8%; controladas diariamente durante todo o experimento. O fornecimento de água *ad libitum* e alimentação controlada com presa viva, na quantidade em gramas (g.), equivalente a 10% do peso vivo da serpente tratada. A presa viva escolhida para alimentação dos animais desta experimentação foram neonatos de *Ratus norvegicus* e *Mus musculus*, criados no biotério do CRAS já para destinação aos animais abrigados pela instituição. Eles eram pesados no dia do manejo alimentar das serpentes do experimento, caracterizados por serem animais recém-nascidos, com os olhos ainda fechados e que não possuem a capacidade de fuga ou ataque. Dessa forma são oferecidos vivos às serpentes para desafiar-las à caça e bote; filhotes com pelagem estabelecida, olhos abertos já são capazes de se defender do bote e podem causar acidentes às serpentes durante a alimentação, gerando estresse aos dois indivíduos e não efetivando a cadeia alimentar natural (Campagner, 2011) (Figura 1). Este alimento foi ofertado uma por semana, sempre às sextas-feiras, com período pós-prandial de 2 dias (sábado e domingo) onde não ocorre manejo sanitário; a fim de evitar a regurgitação do alimento pelas serpentes (Campagner, 2011).

Figura 1 – Controle de pesagens da alimentação com presas vivas de neonatos de *Rattus norvegicus*.



Fonte: Arquivo dos autores (2022).

O peso das presas variou conforme a necessidade de se estabelecer 10% do peso vivo das serpentes, de acordo com o crescimento das mesmas durante o período do experimento científico. O enriquecimento ambiental ofertado aos animais foi feito com materiais recicláveis de modo a mimetizar esconderijos e galhos secos; como substrato foi utilizado papel absorvente branco ou pardo, dependendo da disponibilidade do empreendimento de fauna.

Previamente, no serpentiário, foram observados e coletados os parâmetros de temperatura ambiente e umidade relativa do ar num período de três meses com o auxílio de um termo-higrômetro eletrônico Masterlabor (Calibração NBR ISO/IEC 17025). O controle médio de temperatura ambiental foi de 25,8° Celsius nos meses de maio a julho de 2022 e o controle de umidade relativa do ar do ambiente ficou em média no mesmo período, em 49,6% (cujo mês de julho teve o menor índice devido ao inverno: 44%). A dificuldade de termorregulação em sistemas de criação intensivo pode levar ao desequilíbrio fisiológico em meses mais frios (Andrade, 2022).

A biometria inicial para a padronização dos grupos foi executada através do método de avaliação para répteis, descrito por Gimmel, Öfner & Liesegang (2020), que define o Índice de Condição Corporal através de medições da circunferência do corpo, da ponta da cabeça-cloaca e da palpação do pescoço, na porção do processo espinhoso e transversal da coluna e das costelas (Tabela 1). Este mesmo procedimento de biometria foi executada quinzenalmente, durante todo o período experimental que teve a duração de 150 dias, como modo de avaliação dos animais (Figuras 2 e 3). Os dados biométricos foram coletados, planilhados no programa Microsoft Excel e análise estatística com o programa GraphPad InStat e teste ANOVA.

Tabela 1 – Avaliação de *score* corporal em répteis.

Sensação Tátil	Escala
Fino	1
Fácil palpação	2
Palpável	3
Palpável com pressão	4
Não palpável	5

Fonte: os autores, baseado em literatura de Gimmel, Öfner & Liesegang (2020).

A palpação de áreas do corpo define o score em escala de 1 a 5, onde 1 o animal está em estado de magreza e 5, obeso. A Tabela 2, a seguir, apresenta a análise biométrica inicial e a final do protocolo de irradiações.

Tabela 2 – Análise biométrica inicial, no início das irradiações *versus* biometria ao final do protocolo de irradiações.

Grupos	Indivíduos/ nº de registro	PI - Peso	CI	PF - Peso Final	CF	% de ganho	% de ganho em
		Inicial (g)	Comprimento Inicial (cm)	(g)	Comprimento Final (cm)	em peso (g)	Comprimento (cm)
		20/abr	20/abr	17/out	17/out		
G1 Placebo	2975	113	86,5	280	104,5	147,8	20,8
	2986	100	72,3	277	88	177	21,7
	2988	85	78,0	165	93	94,1	19,2
	2968	145	95,0	307	107	111,7	12,6
	2978	88	84,7	246	98,5	179,5	16,3
	2964	102	87,0	199	100,5	95,1	15,5
G2 Irradiado	2976	137	92,4	303	110	121,2	19,0
	2970	151	98,0	409	114,6	170,9	16,9
	2979	123	88,0	300	104,5	143,9	18,8
	2983	117	87,0	290	100	147,9	14,9
	2985	115	83,0	255	98,5	121,7	18,7
	2974	102	86,6	251	99	146,1	14,3
G3 Controle	3620	149	92,0	369	112,5	147,7	22,3
	2982	93	85,5	228	102	145,2	19,3
	2969	124	86,0	294	107	137,1	24,4
	798	153	99,0	332	107,5	117,0	8,6
	2962	107	85,5	264	100	146,7	17,0
	2981	99	86,5	213	100	115,2	15,6

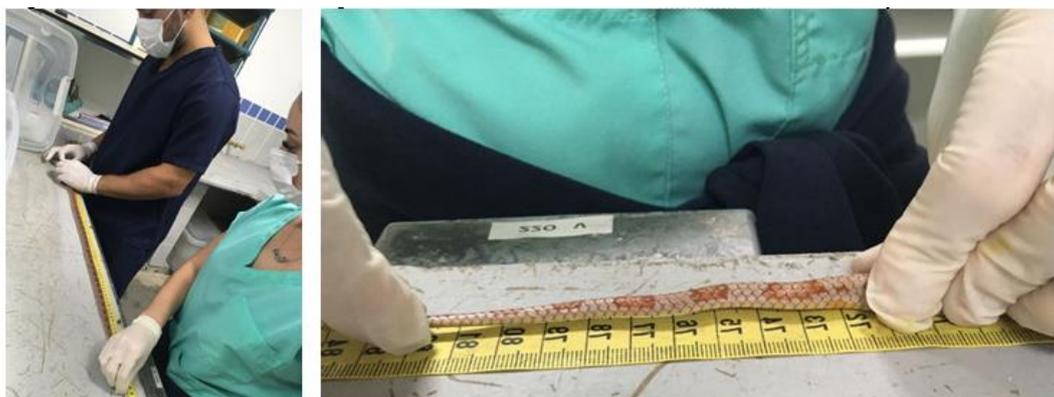
Fonte: Autoria própria (2022).

Os resultados de porcentagem foram obtidos pela fórmula = (peso final – peso inicial) – 1 / 100. As Figuras 2 e 3, a seguir, apresentam a biometria das serpentes por meio da medição longitudinal. Nas imagens, é possível acompanhar a medição de comprimento total da serpente e comprimento de cauda (em centímetros), realizada com fita métrica fixa em bancada.

Os grupos foram estabelecidos aleatoriamente, compostos por 6 serpentes, divididos em: G1 – animal sob contenção física, probe posicionada e irradiação desligada, não irradiado; G2 – animal sob contenção física, probe posicionado irradiação ligada, irradiado; G3 – animal sem qualquer contenção e irradiação, apenas com manejo alimentar controlado padronizado ao estudo. Todos os grupos receberam manejo higiênico-sanitário semelhante.

A técnica de fototerapia vascular sistêmica transdérmica foi executada com um equipamento de diodo laser de ArGaAl de baixa intensidade com parâmetros pré-estabelecidos (Tabela 3).

Figuras 2 e 3 – Biometria das serpentes baseada na literatura de Gimmel, *et al.*, (2020).



Fonte: Arquivo dos autores (2022).

Tabela 3 – Parâmetros do equipamento de radiação.

Parâmetro	ILIB
Comprimento de onda (l)	660
Potência (Watts)	0,1
Diâmetro de abertura (cm ²)	0,06
Tempo de exposição por ponto (s)	300
Energia depositada por ponto (J)	30
Densidade de Energia (J/cm ²)	500
Modo de operação	Contínuo
Técnica de aplicação	Contato transcutâneo
Número de pontos irradiados	1

Fonte: Autoria própria (2022).

O procedimento de irradiação nesta experimentação, foi com o posicionamento da probe laser na porção ventral, na localização anatômica da décima escama abaixo da cloaca, com o animal sob contenção física por pessoa treinada e habilitada. A contenção do animal foi feita respeitando as particularidades e fisiologia do modelo experimental – serpente *P.guttatus* – sendo na cabeça, no primeiro terço do corpo e no terço final, região de cauda e do ponto elegido para aplicação da fototerapia (Figuras 4 e 5). A Frequência Cardíaca (FC) de cada serpente durante todo tempo de contenção, dos grupos G1 – não recebeu irradiação, e G2 – recebeu irradiação, foi avaliada com equipamento *Doppler* (modelo Doppler veterinário DV 610V, marca MEDMEGA) de forma a obter dados da variação de FC ocasionada supostamente por estresse de manejo.

Figuras 4 e 5 – Protocolo de irradiação em dois exemplos de serpentes.



Fonte: Arquivo dos autores (2022).

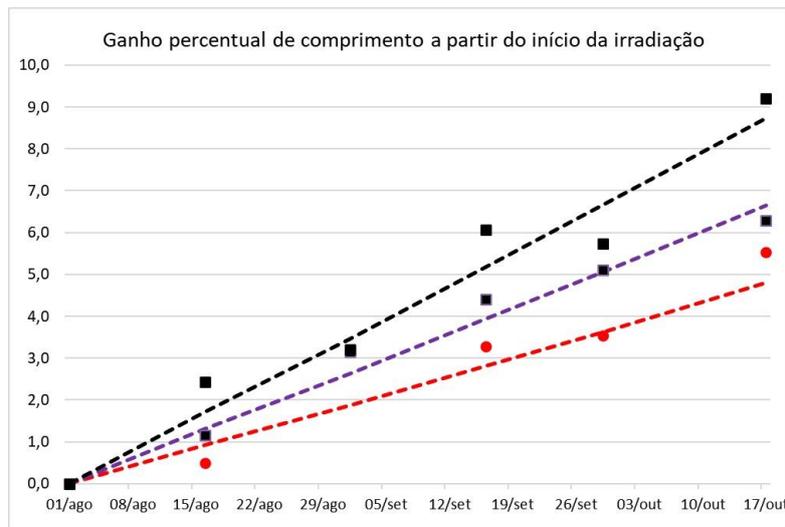
O procedimento consiste na contenção física, acompanhamento de Frequência Cardíaca e irradiação de laser com probe localizada no terço final da cauda.

3. Resultados

Não foi observado nos grupos G1 e G2, em que os animais foram contidos, variações da frequência cardíaca (FC) que tenha relação ao estresse de contenção. A FC manteve-se entre 70 e 80 bpm, o que se pode inferir que foi garantido o bem estar dos animais durante todo o procedimento experimental. O comportamento compatível com a classe *Reptilia*, foi observado em 66,7% do grupo G2, sendo: movimentos musculares em S acompanhados de resistência ao manejo, espasmos e certa dificuldade de relaxamento durante o procedimento. Esta manifestação de comportamento foi observada a partir do tempo de 180 segundos do início da irradiação e regrediu ao estado análogo do tempo inicial nos últimos 30 segundos do procedimento. Sugere-se que a serpente voltou ao estado inicial após o gasto de energia comportamental de defesa, que sem sucesso e ameaça, levou que retornasse ao repouso não identificando perigo de predação. No grupo G1, foi observado que todas as serpentes mantiveram FC regular, sem alterações, durante todo o procedimento. O grupo controle G3 manteve fezes e frequência de ecdise dentro da normalidade (Semlitsch, 1979), já observado no período anterior ao estudo.

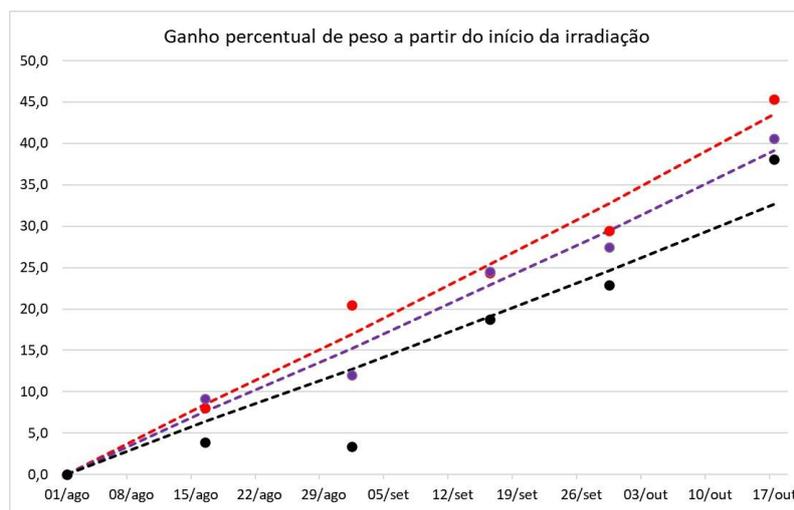
Os valores médios iniciais de peso (em gramas) e comprimento (em centímetros) obtidos na avaliação biométrica prévia não apresentaram variação entre os grupos em teste ANOVA ($p > 0,10$), garantindo equidade das amostras. Na biometria exclusiva a partir do mês de agosto, quando houve o início das aplicações de LASER, a análise estatística evidenciou um ligeiro aumento de comprimento e breve declínio no ganho de peso estimado simultaneamente no G2. A Figura 6 apresenta um gráfico mostrando o crescimento em comprimento. A Figura 7 apresenta um gráfico mostrando o crescimento em peso.

Figura 6 – Gráfico de análise de crescimento, em comprimento.



Legenda: Em vermelho, G2 irradiado; em roxo, G1 placebo; e em preto, G3 controle. Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 7 – Gráfico de análise de peso, em gramas.



Legenda: Em vermelho, G2 irradiado; em roxo, G1 placebo; e em preto, G3 controle. Fonte: Autoria própria (2022).

Nos gráficos é necessário considerar os pontos, como os dados coletados; e as linhas, como valor estimado absorvido pela técnica ANOVA, de análise estatística. Assim, a análise estatística dos dados coletados pelo teste ANOVA (em $p > 0,10$) demonstrou que não houve diferença estatística entre os grupos. Contudo, foi possível observar que, numericamente, houve ganho de peso e comprimento no grupo G2, em que o animal foi contido e irradiado da técnica de fototerapia vascular sistêmica transdérmica (Tabela 4).

Tabela 4 – Valores médios do ganho de massa e do ganho de comprimento para cada grupo experimental (ANOVA).

Ganho médio	Controle	Placebo	Irradiado
Massa (g)	92 ± 34	86 ± 25	100 ± 34
Comprimento (cm)	9,3 ± 2,6	9,9 ± 2,4	10,3 ± 1,8

Fonte: Autoria própria (2022).

4. Discussão

No presente ensaio científico, os animais utilizados como modelo experimental estavam cativos por serem oriundos de apreensão, desse modo, abrigados em biotério. Nenhum deles apresentava nenhum tipo de distúrbio orgânico, de qualquer natureza ou em função de serem animais cativos, anterior a este experimento e tão pouco durante o desenvolvimento e execução do ensaio. Rotineiramente, como parte do manejo sanitário, os animais eram monitorados e avaliados com exames coproparasitológico e submetidos ao exame físico executado por Médico Veterinário – especialista em animais silvestres e exóticos – isento ao ensaio e pelo responsável técnico do CRAS; de tal modo a manter o padrão sanitário adequado à espécie e para garantir que nenhum dos animais deste estudo estivesse com qualquer patologia ou desconforto em função das ações do ensaio.

Serpentes da espécie *P. guttatus* mantidas em cativeiro tem seu crescimento limitado em função do tamanho do abrigo disponível, das condições de ambientais e da alimentação ofertada. Isso pode limitar o crescimento corporal de serpentes, sua taxa de aproveitamento do alimento ofertado e, em consequência seu ganho de peso corporal e desenvolvimento geral. (Campagner, 2011).

Diversos fatores afetam o crescimento e a maturidade sexual de serpentes em vida livre como as variadas condições ambientais do meio em que vivem. Em cativeiro há uma importante influência da dieta oferecida e do clima imposto ao biotério (Passos, 2018). Um estudo realizado com serpentes da família *Colubridae* conclui que a maturidade sexual varia em poucos meses e próximos a um ano de idade. Essa variação é de acordo com o sexo: machos maturam rapidamente, entre 7 e 9 meses, enquanto fêmeas a partir de um ano de idade (Di-Bernardo, *et al.*, 1998), ao passo que as fêmeas adquirem maior peso e estatura ao longo do desenvolvimento (Federsoni, 1978/79 apud Sandoz, 1999). Os animais deste experimento foram selecionados e separados em grupos, machos e fêmeas aleatoriamente, não considerando o sexo ou a maturação sexual do indivíduo experimentado, assim, a diferença sexual não foi uma variável considerada nesta pesquisa científica.

O primeiro ano de vida é o período de maior crescimento e alguns estudos definem como ponto crucial para os colubrídeos o tipo de presa oferecida, sendo a dieta de preferência dos animais em desenvolvimento os anfíbios e mamíferos (Passos, 2018). A frequência das alimentações varia com a idade do animal, podendo ser semanal para animais com até um ano e meio de vida, quinzenal até três anos e mensal para adultos na maioria das espécies (Melgarejo-Gimenez, 2002) A quantidade de peso da presa varia de acordo com a necessidade de cada espécie é preferencial que seja oferecida abatida para evitar mordeduras nas serpentes e evitar sofrimento da presa em caso de víboras, pela ação da peçonha (Melgarejo-Gimenez, 2002). Pinto (2010) definiu o uso adequado de alimentação de presa com até 30% do peso vivo da cobra sem necessidade de suplementação. No processo de digestão tudo é absorvido da presa exceto pelos e garras (Pinto, 2010). A pesquisadora científica do Museu Biológico do Butantan, Dra. Silvia Regina Travaglia Cardoso (Cardoso, 2022) explica em curso de extensão universitária, que o oferecimento da alimentação por peso vivo da serpente dependerá dos hábitos de cada espécie de acordo com o gasto de energia que o animal necessita para expressar seu comportamento natural (arborícola, terrestre, aquática, etc) (Cardoso, 2022). O estabelecimento do peso da presa relativo ao tamanho da serpente garante uma alimentação sem necessidade de suplementação segundo Pinto (2010) desde que haja variabilidade de espécies de roedores.

Todas as espécies de serpentes sob responsabilidade do CRAS-UNIVAP são alimentadas com neonatos de ratos (*Rattus norvegicus*) e de camundongos (*Mus musculus*) semanalmente, no caso das *corn snakes* jovens, quinzenalmente para as espécies adultas e mensalmente para os viperídeos, devido à complexidade do manejo seguro (estas, não inclusas no experimento). Nesse experimento, foi padronizado o uso de presas vivas ou abatidas (com intuito de evitar mordeduras) com 10% do peso vivo da serpente, acompanhado em biometrias quinzenais e adaptado de acordo com o crescimento da cobra nos meses de estudo. Na Figura 6, é possível observar a variação de peso dos neonatos de acordo com o ganho de massa ao longo do período desta experimentação científica.

A ecdise é o sinal mais claro de desenvolvimento e a muda completa, sem fragmentação, e é considerada um parâmetro de animais saudáveis (Federsoni, 1978/79 apud Sandoz, 1999). De acordo com Petzold (1984 apud Sandoz, 1999) “*A troca de pele está diretamente ligada ao crescimento das serpentes e sua frequência é geralmente maior em filhotes do que em adultos*”. A ecdise é o processo natural e contínuo de descamação de pele das serpentes, no qual representa o processo de crescimento do animal (Semlitsch, 1979). Diversos fatores podem interferir nesse processo como: estar em ambientes com a temperatura baixa, nutrição inadequada, dermatites, problemas no sistema endócrino (Harkewicz, 2002). A frequência entre as ecdises varia conforme a idade das serpentes sendo que os animais adultos esse processo pode ocorrer num período de três a quatro meses, já nos animais mais jovens esse período é mais curto variando entre três a oito semanas (Kubiak, 2020). Alguns processos patológicos podem interferir nessa troca de pele, o principal deles é o hipertireoidismo que pode causar um aumento na frequência da ecdise; tanto o hipertireoidismo primário quanto o secundário pode levar ao aumento dessa frequência (Kubiak, 2020). Os animais que estão iniciando essa troca de pele têm a necessidade criar uma reserva energética para a conclusão desse procedimento, a porcentagem de energia necessária varia conforme as espécies, a *Pantherophis guttatus* tem como reserva 3% de energia ingerida (Semlitsch, 1979). Foi observado, mas não considerado neste ensaio, que os animais do grupo G2 apresentaram ecdises mais rápidas, isto é em menor tempo. A justificativa de não considerar como um dado para este estudo o tempo decorrido de ecdise dos animais experimentados, em função de não manipular ou estressar os animais com qualquer atividade que se fizesse necessária para obtenção de medidas ou qualquer outro modo de coleta de dados desta muda de pele, portanto isso foi um evento observado e não considerado e que pode ser relacionado com os resultados apresentados de ganho de peso e comprimento, mas sem consideração estatística.

Outra característica das espécies da família *Colubridae* é a rápida taxa de metabolização após o período pós-prandial onde ocorre um pico de digestão e retornando ao estado de jejum após 2-4 dias (Crocker-Buta & Secor, 2014). Corroborando com a literatura foi adotado como procedimento ofertar o alimento semanalmente para as serpentes, sempre as sextas-feiras, coincidindo com o período de descanso e suspensão das atividades rotineiras do serpentário, bem como a circulação de pessoas – sábado e domingo – nos recintos em que elas se encontravam alojadas. Isso para evitar qualquer alteração ou interferência no período pós prandial. Após as alimentações, recomenda-se evitar circulação por até sete dias, para não interferir na digestão dos animais adultos e causar regurgitações indevidas (Campagner, 2011). Em dias de alimentação pode-se notar um comportamento agressivo nas serpentes (Andrade, 2022). A obesidade é um fator comumente diagnosticado em serpentes mantidas em cativeiro e criações de serpentário intensivo devido à falta de movimentação nos biotérios e aos espaços reduzidos (Campagner, 2011) levando ao quadro de atrofia muscular (Andrade, 2022) além da influência direta da ambiência: luminosidade, temperatura e umidade.

A maturidade sexual ativa o metabolismo reprodutivo de forma sistêmica envolvendo o eixo hipofisário, onde fatores como o aporte nutricional gerado pela caça em animais de vida livre contribuem para o *score* e balanço positivo no caso das fêmeas; e para os machos, a importância do crescimento corporal influencia na conquista da fêmea para acasalamento e o embate de rivalidade com os outros machos para disputa da cópula (Passos, 2018). Em seu estudo, Passos (2018) garante que a dieta influencia na maturidade sexual e crescimento, principalmente de fêmeas.

Vale considerar também, que nas serpentes as variações de padrão das escamas se comparam às impressões digitais do homem tornando cada indivíduo único, porém as diferenças de coloração são normais e podem apresentar caráter regional, individual ou ontogenéticas e a cor e o padrão são independentes entre si (Bechtel, 1978). Os de terra firme tendem a apresentarem a cor marrom embora ocorram exemplares vermelhos e amarelos (Bechtel, 1978). A coloração básica da pele é definida pelos cromatóforos para as cores preta, vermelha e amarela e os tons são refletidos pelos iridóforos (Bechtel, 1978). Fisiologicamente as cores amarela e vermelha não interferem em outros aspectos nas serpentes saudáveis (Bechtel, 1978). Na divisão aleatória dos grupos do experimento houve maior incidência de exemplares amarelos no grupo G2, irradiado com laser,

e maior incidência de serpentes alaranjadas no grupo G1, não irradiado, enquanto houve variação entre todas as cores disponíveis (cinza, amarela e laranja) no grupo G3, o controle sem nenhuma intervenção. Entretanto, o ponto escolhido na porção ventral, na décima escama contada a partir da cloaca da serpente, do grupo G1 e G2 onde a cor da pele era clara, sem qualquer pigmentação, de tal modo que isso não foi uma interferência ou anteparo para a irradiação da luz laser. Isso foi importante consideração, uma vez que a luz interage com cromóforos naturais com organismo vivo; tal como a melanina, hemoglobina; e este efeito pode ser um atenuante da penetração e absorção da luz laser em tecidos mais profundos em relação à pele.

A hipótese a ser respondida, neste ensaio experimental com serpentes as *Corn-snakes*, foi se a técnica de fototerapia vascular sistêmica transdérmica com laser de baixa intensidade, 660 nm, dentro de parâmetros pré-estabelecidos, influenciaria o metabolismo das serpentes irradiadas de tal modo que a conversão alimentar fosse incrementada. Esta hipótese foi embasada por diferentes literaturas que descrevem a fototerapia como uma terapia biomoduladora dos sistemas orgânico, otimizando o sistema circulatório, melhorando a oxigenação tecidual.

A técnica de fototerapia executada neste estudo foi à irradiação vascular transdérmica, que tem por finalidade irradiar o volume de sangue circulante no organismo vivo; esta técnica fotônica é uma adaptação da técnica ILIB (*Intravascular Laser Irradiation of Blood*) descoberta na antiga União Soviética em 1980 (Chiran, *et al.*, 2013). A técnica ILIB inicialmente caracteriza-se pela inserção de uma fibra óptica de irradiação laser em um leito vascular de grosso calibre, contudo, esta técnica é invasiva, dolorosa e suscetível a infecções e agravamento do paciente.

O modo de aplicação da irradiação laser nas serpentes deste estudo ocorreu 05 (cinco) minutos em 05 (cinco) dias consecutivos de terapia e pausa de 2 dias, totalizando 7 (sete) dias de observação. Durante a irradiação o tempo foi cronometrados em *timmer* eletrônico, e a probe foi alocada, perpendicularmente, na posição da décima escama contadas a partir da cloaca do animal, onde encontra-se a veia periférica da cauda. O que corroborou com o estudo de e de Silva Leal e colaboradores. (2020) que demonstrou em seu trabalho com pacientes diabéticos humanos efeitos positivos de ativação celular, efeito antioxidante e anti-inflamatória, aumento da circulação sanguínea que resultaram na melhora de qualidade de vida dos pacientes tratados através da aplicação desta terapia, por 30 minutos por 10 dias consecutivos, em três ciclos com intervalos de vinte dias entre cada ciclo.

A FC das serpentes durante todo o tempo de irradiação foi aferida utilizando equipamento Doppler, a fim de garantir o bem estar das serpentes e alguma alteração pelo estresse da contenção manual. Durante o procedimento, a frequência cardíaca manteve-se entre 70 e 80 bpm, dentro da normalidade para a família *Colubridae* corroborando com os achados de Cruz, *et al.*, (2006) o que podemos inferir que foi garantido durante todo o procedimento experimental o bem estar dos animais. O comportamento compatível com a classe *Reptilia*, foi observado em 66,7% do grupo G2, sendo eles: movimentos musculares em S acompanhados de resistência ao manejo, espasmos e certa dificuldade de relaxamento durante o procedimento. Esta manifestação de comportamento foi observada a partir do tempo de 180 segundos do início da irradiação e manteve-se até os 240 segundos, após, o animal voltou ao estado de repouso. No grupo G1, foi observado que todas as serpentes mantiveram FC regular, sem alterações, durante todo o procedimento. O grupo controle G3 manteve fezes e frequência de ecdise dentro da normalidade (Semlitsch, 1979), já observado no período anterior ao estudo.

A irradiação do fluxo sanguíneo circulante tem por objetivo fotobiomodular as células do sistema imune, mecanismos anti-inflamatórios no organismo (Matos, *et al.*, 2021). Atuando de forma sistêmica a técnica de irradiação vascular sistêmica, consiste em irradiar com o feixe de luz laser, de modo transdérmico; isto é fora do leito vascular; uma veia ou artéria periférica calibrosa. Os fótons serão absorvidos pelos componentes do sangue, e ocorrerá efeitos fotofísicos, fotoquímicos e fotobiológicos nas células sanguíneas, promovendo efeitos em todo o sistema circulatório através de uma vasodilatação pela dissociação do óxido nítrico (NO) permitindo assim o aumento no fluxo sanguíneo sistêmico, incremento da oxigenação

tecidual pela tanto em função da vasodilatação e realogia das hemácias, além de modulação do sistema imunológico, endócrino e cadeia linfática (Silva Leal, *et al.*, 2020; Ramos, *et al.*, 2018; Santos *et al.* 2023). Em linhas gerais, os benefícios da irradiação vascular sistêmica transdérmica são: diminuição dos níveis de radicais livres no organismo em função da reativação da enzima Superóxido Dismutase (SOD); microcirculação local e sistêmica dos tecidos pela vasodilatação e dissociação do NO, incremento da produção energética de Adenosina Trifosfato (ATP) das células a nível mitocondrial e consequente ativação da cascata metabólica celular, levando a regulação dos mediadores inflamatórios, causa efeito positivo na expressão das imunoglobulinas (IgA e IgG) (Razzaghi, *et al.*, 2021; Ramos, *et al.*, 2018; Tomé, *et al.*, 2020).

Os ensaios de Khoo, *et al.*, (2017) que demonstraram que a irradiação sanguínea apresenta resultados positivos em uma grande variedade de desordens sistêmicas do organismo vivo, melhorando-o provavelmente pelo aumento da oxigenação tecidual, ativação de mecanismo inespecíficos da imunidade, redução da agregação plaquetária e consequente melhoria da circulação periférica em geral; Outros grupos de pesquisas (Ramos, *et al.*, 2018; Petrosyan, *et al.*, 2005; Yatskevich, Semenova & Moskvina, 2017) buscaram avaliar os efeitos positivos da terapia de irradiação vascular sistêmica em diferentes patologias e espécies de animais e os resultados até o presente momento são positivos.

Na literatura de Lewis (2020) é mencionada a falta de estudos dos parâmetros cardiológicos de serpentes devido a fatores fisiológicos que dificultam as medições de forma acurada, entretanto, considera-se o manejo físico uma variável da Frequência Cardíaca relacionada ao estresse da contenção. De forma pioneira, o autor Silva Neto (2021) estabeleceu em experimento com Eletrocardiograma (ECG) que a FC da *corn snake* é normal no valor de 50-55 bpm para ambos os sexos. No presente estudo, foi observada variação de FC entre 70-80 bpm (equipamento *Doppler* veterinário DV 610 V, MEDMEGA) em todos os grupos experimentais, que apesar de um pouco acima do embasamento literário, foi considerado normal levando em conta a tranquilidade dos indivíduos durante o procedimento, com uma pequena movimentação muscular em S, condizente à espécie, a partir do 3º minuto de aplicação do laser (tempo total de 5 minutos).

As biometrias das cobaias de cativeiro utilizaram os parâmetros de referência de Gimmel, *et al.* (2020) para medições de répteis, como a medida da circunferência no ponto de 50% do intervalo focinho-cloaca, estabelecimento de *score* (em escala de 1 a 5, segundo a Tabela 1), medida de cauda e medida do focinho à cloaca. Contudo, os autores levaram em conta outras medições para completar as tabelas no formato Excel, foram elas: tamanho da cabeça (em largura e comprimento) e comprimento total do focinho à cauda. Sexagem e definição de padrão de cor também foram analisados quanto à maturidade sexual e comportamento da espécie, respectivamente, que segundo Di-Bernardo (1998); Bechtel (1978) relacionando o crescimento precoce de machos e coloração mais pigmentada a comportamentos arredios. Um indivíduo em específico, de coloração alaranjada, demonstrou comportamento de defesa ao realizar a tentativa de descarga cloacal.

Quanto a utilização da terapia fotodinâmica, alguns autores conquistaram resultados positivos na modulação em patologias do mundo animal (Petrosyan, *et al.*, 2005); (Yatskevich, Semenova & Moskvina, 2017); (Ramos, *et al.*, 2018), representando essa nova técnica da medicina como efetiva e sem efeitos colaterais.

5. Conclusão & Sugestões

Considerando as avaliações biométricas obtidas em 150 dias de estudo e 90 dias de experimento, pode-se inferir que a aplicação da terapia fotosistêmica com luz de baixa intensidade, na técnica de irradiação vascular sistêmica transcutâneo, favoreceu o crescimento de *P. guttatus* em condições de bioterismo, ajudando no desenvolvimento das cobaias com ganho de peso e comprimento numa dieta controlada com padrão de 10% do peso vivo da serpente, cuidando do bem estar dos indivíduos e criando um desafio ao sedentarismo com o manejo de contenção física favorecendo o metabolismo alimentar.

Sugerimos que outros estudos experimentais de tratamento com luz LASER e LED, de diferentes comprimentos de onda, na espécie *P. guttatus*, a fim de verificar outras respostas de fotobiomodulação, positiva ou negativa, que possa impactar

na fisiologia e, conseqüentemente, no desenvolvimento e bem estar desta espécie em cativeiro. Também, sugerimos que a fototerapia através da técnica de irradiação vascular sistêmica transdérmica seja incorporada como recurso no tratamento de outros distúrbios do organismo vivo desta espécie.

Referências

- Andrade, K. S. D. (2022). Criação e manejo de serpentes para extração de veneno.
- Araujo, T., Andreo, L., Tobelem, D. D. C., Silva, T., Malavazzi, T. C. D. S., Martinelli, A., ... & Mesquita-Ferrari, R. A. (2023). Effects of systemic vascular photobiomodulation using LED or laser on sensory-motor recovery following a peripheral nerve injury in Wistar rats. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 22(3), 567-577.
- Batista, B. M. D. C. (2022). Manejo alimentar de *Crotalus durissus* em cativeiro.
- Bechtel, H. B. (1978). Color and pattern in snakes (Reptilia, Serpentes). *Journal of Herpetology*, 521-532.
- Bonett, R. M., Boundy, J., Burbrink, F. T., Crother, B. I., de Queiroz, K., Frost, D. R., ... & Seidel, M. E. (2017). Scientific and standard English names of amphibians and reptiles north of Mexico, with comments regarding confidence in our understanding.
- Campagner, M. V. (2011). Manejo de serpentes em cativeiro: manejo clínico-sanitário e avaliação da microbiologia.
- Cardoso, S. R. T. (2022). *Animais Venenosos*. Curso de Extensão Universitária. Escola Superior Instituto Butantan.
- Chiran, D. A., Litscher, G., Weber, M., Ailioaie, L. M., Ailioaie, C., & Litscher, D. (2013). Intravenous laser blood irradiation increases efficacy of etanercept in selected subtypes of juvenile idiopathic arthritis: an innovative clinical research approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013(1), 168134.
- Crocker-Buta, S. P., & Secor, S. M. (2014). Determinants and repeatability of the specific dynamic response of the corn snake, *Pantherophis guttatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 169, 60-69.
- Crother, B. I., Boundy, J., Campbell, J. A., de Queiroz, K., Frost, D., Green, D. M., ... & Wake, D. B. (2003). Scientific and standard English names of amphibians and reptiles of North America north of Mexico: update. *Herpetological Review*.
- Cruz, J. G. P., Júnior, A. A. S., & Reinert, M. (2006). Variações circadianas em *Spilotes pullatus* (Colubridae). *Biotemas*, 19(4), 49-53.
- Di-Bernardo, M., Martins, M. B., Pontes, G. M., & Hilleshein, R. (1998). Crescimento e maturidade sexual em *Liophis jaegeri*, *Philodryas patagoniensis* E *Xenodon neuwiedii* (serpentes, colubridae) no nordeste elevado do RS, Brasil. *Salão de Iniciação Científica (10.: 1998: Porto Alegre)*. Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS, 1998.
- Faria, P., Oteiro, Rizzi, Andrielle, Silva, J., Roberto, Minello, & Fernando, L. O profissional zootecnista e o manejo nutricional de serpentes pertencentes ao Zoológico da Universidade de Passo Fundo. (2014). 23º Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas.
- Federsoni, Jr., P.A. *apud* Sandoz (1999). Criação e manutenção de serpentes da espécie *Bothrops atrox* nascidos em cativeiro (Serpentes-Viperidae-Crotalinae). (1978/79). 159(42/43). Mem. Instituto Butantan.
- Flosi, F. M., Garcia, J. M., Pugliese, C., Sanchez, A. A., & Klai, A. (2001). Manejo e enfermidades de quelônios brasileiros no cativeiro doméstico. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP*, 4(2), 65-72.
- Gimmel, A., Öfner, S., & Liesegang, A. (2021). Body condition scoring (BCS) in corn snakes (*Pantherophis guttatus*) and comparison to pre-existing body condition index (BCI) for snakes. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 105, 24-28.
- Harkewicz, K. A. (2002, July). Dermatologic problems of reptiles. In *Seminars in avian and exotic pet medicine* (Vol. 11, No. 3, pp. 151-161). WB Saunders.
- Hochman, B., Nahas, F. X., Oliveira Filho, R. S. D., & Ferreira, L. M. (2005). Desenhos de pesquisa. *Acta cirúrgica brasileira*, 20, 2-9.
- Khoo, N. K., Shokrgozar, M. A., Kashani, I. R., Amanzadeh, A., Mostafavi, E., Sanati, H., ... & Akrami, S. M. (2014). In vitro therapeutic effects of low level laser at mRNA level on the release of skin growth factors from fibroblasts in diabetic mice. *Avicenna journal of medical biotechnology*, 6(2), 113.
- Kubiak, M. (Ed.). (2020). *Handbook of exotic pet medicine*. John Wiley & Sons.
- Lewis, M., Bouvard, J., Eatwell, K., & Culshaw, G. (2020). Standardisation of electrocardiographic examination in corn snakes (*Pantherophis guttatus*). *Veterinary Record*, 186(19), e29-e29.
- Matos, B. T. L., Buchaim, D. V., Pomini, K. T., Barbalho, S. M., Guiguer, E. L., Reis, C. H. B.,... & Buchaim, R. L. (2021). Photobiomodulation therapy as a possible new approach in COVID-19: A systematic review. *Life*, 11(6), 580.
- Melgarejo-Giménez, A. R. (2002). Criação e manejo de serpentes. *Animais de Laboratório: criação e experimentação*, 388.
- Mitchell, M. A. (2004). Snake care and husbandry. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 7(2), 421-446.
- Paiva, M. I. S. (2015). Manejo de serpentes em cativeiro: análise da infraesrutura, saúde animal e enfermidades virais e parasitárias.

- Passos, J. (2018). *Influência no crescimento de Bothrops insularis e Bothrops jararaca: a dieta pode interferir no tamanho da maturidade sexual em cativeiro?* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Pereira A. S. et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [free e-book]. Santa Maria/RS. Ed. UAB/NTE/UFSM.
- Petrosyan, E. A., Sergienko, V. I., Onopriev, V. I., Pogosyan, A. E., & Zakharchenko, I. S. (2005). State of the nonspecific component of the immune system during combination therapy for experimental bile peritonitis. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 140, 292-294.
- Petzold, H. G. (1984). *Aufgaben und Probleme bei der Erforschung der Lebensäusserungen der niederen Amnioten (Reptilien)*. BINA, Verlag für Biologie und Natur.
- Pinto, E. A. M. (2010). *Manejo de roedores e serpentes criados em biotério*. Relatório de Estágio Supervisionado IV. Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
- Ramos, F. S., Maifrino, L. B. M., Alves, S., da Costa Aguiar Alves, B., Perez, M. M., Feder, D., ... & Fonseca, F. L. A. (2018). The effects of transcutaneous low-level laser therapy on the skin healing process: an experimental model. *Lasers in Medical Science*, 33, 967-976.
- Razzaghi, M. R., Ghanei, E., Malekian, S., & Mazloomfard, M. M. (2021). Intravenous laser therapy in patients with acute kidney injury: a randomized clinical trial. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 12.
- Sandoz, A. (2000). Desenvolvimento de filhotes de *Bothrops moojeni* Hoge, 1966 (Serpentes, Viperidae, Crotalinae) em cativeiro.
- Santos Malavazzi, T. C., Fernandes, K. P. S., Lopez, T. C. C., Rodrigues, M. F. S. D., Horliana, A. C. R. T., Bussadori, S. K., & Mesquita-Ferrari, R. A. (2023). Effects of the invasive and non-invasive systemic photobiomodulation using low-level laser in experimental models: A systematic review. *Lasers in Medical Science*, 38(1), 137.
- Semlitsch, R. D. (1979). The influence of temperature on ecdysis rates in snakes (genus *Natrix*)(Reptilia, Serpentes, Colubridae). *Journal of Herpetology*, 13(2), 212-214.
- Shitsuka, R. (2009). *Matemática fundamental para tecnologia*. Saraiva Educação SA.
- Silva Leal, M. V., Lima, M. O., Nicolau, R. A., de Carvalho, T. M. T., Abreu, J. A. D. C., Pessoa, D. R., & Arisawa, E. A. L. S. (2020). Effect of modified laser transcutaneous irradiation on pain and quality of life in patients with diabetic neuropathy. *Photobiomodulation, photomedicine, and laser surgery*, 38(3), 138-144.
- Silva Neto, A. G., Magalhães, D. S. F., Hage, R., Santos, L., & Cogo, J. C. (2021). Analysis of heart rate variability in corn snakes (*Pantherophis guttatus*). *Research, Society and Development*, 10(11), e294101119781-e294101119781
- Stejneger, L., & Barbour, T. (1939). *A check list of North American amphibians and reptiles*. Harvard University Press
- Toassi, R. F. C. & Petry, P. C. (2021). *Metodologia científica aplicada à área da Saúde*. 2ed. Editora da UFRGS.
- Tomé, R. F. F., Silva, D. F. B., Santos, C. A. O., de Vasconcelos Neves, G., Rolim, A. K. A., & de Castro Gomes, D. Q. (2020). ILIB (intravascular laser irradiation of blood) as an adjuvant therapy in the treatment of patients with chronic systemic diseases—an integrative literature review. *Lasers in medical science*, 35(9), 1899-1907.
- Ullate-Agote, A., Milinkovitch, M. C., & Tzika, A. C. (2014). The genome sequence of the corn snake (*Pantherophis guttatus*), a valuable resource for EvoDevo studies in squamates. *Int J Dev Biol*, 58(10-12), 881-888.
- Vieira, S. (2021). *Introdução à bioestatística*. Ed. GEN/Guanabara Koogan.
- Yatskevich, T. L., Semenova, O. N., & Moskvin, S. V. (2017). Combined laser blood illumination by red (635 nm) and UV (365-405 nm) light in the treatment of small domestic animals with allergic dermatitis.