

Hemograma de la Tortuga Taricaya (*Podocnemis unifilis*).

Complete hematological values of the Taricaya Turtle (*Podocnemis unifilis*).

Gianmarco Paolo Rojas Moreno,^{1,2} MV MSc, Luciana Varillas.²

Recibido : 17 Enero 2013.
Aceptado: 22 Febrero 2013.

Resumen

Durante este estudio se tomaron muestras de sangre periférica de 24 tortugas taricaya (*Podocnemis unifilis*) de ambos sexos, de diferentes edades y pesos, de buena condición corporal y clínicamente sanas, todas mantenidas en cautiverio en el Parque Zoológico Huachipa – Lima, Perú. Todos los animales fueron previamente contenidos manualmente. La sangre se colectó mediante punción de la vena coccígea dorsal, localizada en el punto central y dorsal del tercio proximal de la cola del animal. Las muestras fueron colocadas en microtubos con heparina litio y refrigeradas para su posterior análisis en el laboratorio.

Se obtuvieron valores de eritrograma (RBC) = $240,792 \pm 62,299$, hemoglobina (g/dl) 4 ± 1.06 , hematocrito (%) 18 ± 3.34 , VCM (fl) 802 ± 218 , HCM (pg) 188 ± 57 , CHCM (g/dl) 24 ± 5 , leucograma (WBC) $5,698 \pm 1658$, azurófilos (%) 1 ± 1 , heterófilos (%) 20 ± 7 , eosinófilos (%) 2 ± 1 , basófilos (%) 1 ± 1 , monocitos (%) 3 ± 1 , linfocitos (%) 73 ± 7 , trombocitos $3,295 \pm 1393$.

Se encontraron diferencias significativas en relación a los valores de hematocrito y número de trombocitos, obteniendo mayores valores de hematocrito en las hembras y mayor número de trombocitos en los machos. En relación a la edad, no se encontraron diferencias significativas en los valores de hemograma para los diferentes rangos etáreos.

Los presentes resultados son los primeros parámetros sanguíneos descritos para *Podocnemis unifilis* en el Perú.

Palabras claves: hematología, quelonios, *Podocnemis unifilis*

Abstract

During this study samples were taken from peripheral blood of 24 specimens of Taricayas Turtle (*Podocnemis unifilis*) of both sexes, different ages and weights, of healthy and good body condition turtles. These animals are kept in captivity in the Zoological Park Huachipa - Lima, Peru. All animals were restricted manually. The blood was collected by puncture of the dorsal coccigeal vein, located dorsally at the proximal third part of animal's tail. The blood samples collected were placed in Microtainer tubes with lithium heparin for later analysis in the laboratory.

Obtained as a result of this study values of erythrocyte count (RBC) = $240,792 \pm 62,299$, Hemoglobin (g/dl) 4 ± 1.06 , PVC (%) 18 ± 3.34 , MCV (fl) 802 ± 218 , MCH 188 ± 57 , CMCH (g/dl) 24 ± 5 , white blood cell count (WBC) $5,698 \pm 1658$, Azurophils (%) 1 ± 1 , Heterophils (%) 20 ± 7 , Eosinophils (%) 2 ± 1 , Basophils (%) 1 ± 1 , Monocytes (%) 3 ± 1 , Lymphocytes (%) 73 ± 7 .

There was little significant difference in hematocrit values and number of Trombocytes in relation to sex, being the values of females higher than males for the hematocrit and higher values of trombocitos in the males. In relation to the ages ranges we not found significant differences in the hematological values between the different age ranges established in this study.

The present results are the first blood parameters described for this species in Peru.

Keywords: hematology, chelonian, *Podocnemis unifilis*

Introducción

En el mundo existen aproximadamente 290 especies de quelonios entre terrestres y acuáticos; estos se encuentran en diversos hábitats, principalmente en las regiones tropicales y subtropicales. Se sabe que al menos 166 especies de quelonios están en situación crítica o en peligro de extinción debido, principalmente, a la pérdida de sus hábitats por la acción antropogénica, ya que son cazadas para consumo o vendidas como parte del tráfico ilegal.¹

La tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) es un animal de hábitat acuático; omnívoro sin dientes, de respiración pulmonar y cloacal, con adaptación a largos periodos de buceo, de circulación cerrada, dupla e incompleta. En la actualidad, la disminución de su número en determinadas regiones, debido a la caza predatoria y a la pérdida de sus hábitats, la ha llevado a ser considerada en "Estado Vulnerable" (VU) por la IUCN Red List of Threatened Species². Debido a esto, ha surgido el interés por su reproducción en cautiverio, generando también la necesidad de estudios más profundos sobre su morfología, fisiología, reproducción; sus enfermedades y etiologías.^{3,4,5}

La evaluación del hemograma y del frotis de la sangre periférica es parte del diagnóstico de laboratorio para evaluar a los pacientes reptiles. El hemograma puede ser empleado para detectar condiciones patológicas tales como anemia, inflamación, parasitemia, neoplasia hematopoyética y desórdenes de la homeostasis. Esta evaluación incluye el análisis de los eritrocitos, leucocitos y trombocitos, a partir de una muestra de la sangre periférica⁶. En la mayoría de las especies se puede extraer no más que el 10 % del volumen sanguíneo total con relativa seguridad, aproximadamente 3 ml sangre por kilogramo de peso vivo de la mayoría de los quelonios.⁷

Si bien se han publicado los valores de sangre para una gran variedad de reptiles, son pocos estudios que han seguido las recomendaciones para establecer intervalos de referencia. Algunos estudios realizados en especies de tortugas marinas concluyeron con la determinación de intervalos de referencia para el hematocrito, bioquímica plasmática y fracciones de proteínas plasmáticas con electroforetograma para la tortuga verde (*Chelonia mydas*) y para la tortuga boba (*Caretta caretta*) en la Florida, Estados Unidos.⁸

En Argentina, se tomaron muestras sanguíneas de 150 ejemplares sanos de la tortuga terrestre chilena (*Chelonoidis chilensis chilensis*) por medio de la punción de la vena coccígea dorsal, con el fin de establecer los parámetros hematológicos de referencia normales para la especie, así como su variación debida a factores como sexo, edad y época del año.⁹

Entre los años 1990 y 1995, en el condado de Yavapai y La Paz, del Estado de Arizona en los Estados Unidos de Norte América, se realizó el estudio del hemograma y bioquímica sanguínea de la tortuga de desierto *Gopherus agassizii* de vida libre, con el objetivo de entender la situación de salud de la especie en su estado natural.¹⁰

En Brasil, se compararon los parámetros hematológicos de dos subpoblaciones de tortugas acuáticas *Phrynops geoffroanus* a fin de establecer el efecto del hombre sobre la salud de la especie, una proveniente del río Uberabinha, dentro de un área predominantemente agropecuario y la otra dentro de un área urbano.¹¹

En la Republica Checa, se realizó un estudio comparativo de valores de hemograma y de bioquímica sanguínea de nueve tortugas negras gigantes *Orlitia borneensis* antes y después de presentar un cuadro de letargia, ulceraciones y necrosis caseosa del plastrón. Una de las conclusiones de ese trabajo fue la determinación de la asociación de la presencia de *Haemogregarina* intraeritrocítica con anemia, baja hemoglobina, basofilia, eosinofilia, heterofilia y azurofilia.¹²

En algunos lugares de Amazonía brasileña y peruana, más específicamente en la Reserva Nacional Pacaya-Samiria, se han realizado intentos de recuperación de poblaciones locales de la tortuga charapa *Podocnemis expansa* y de la tortuga taricaya (*Podocnemis Unifilis*), tanto por investigadores como por administradores de recursos naturales, mediante la propagación de crías, protección de playas de desove y algunas otras medidas de manejo, las que han dado muy buenos resultados, lo que nos indica de que mediante acciones acertadas de manejo podemos evitar que estas especies desaparezcan.¹³

Entre Julio y Noviembre de 1998, en la Reserva de Desarrollo Sustentable Mamirauá, situada en la parte media del río Solimões, cerca de la ciudad de Tefé, Amazonas, Brasil, se colectó información básica sobre el período de nidificación y eclosión; así mismo, se cuantificó la pérdida de nidos y la sobrevivencia de embriones de *Podocnemis unifilis* con el objetivo de ayudar a la planificación de futuros estudios más detallados sobre la ecología de la especie.¹⁴

La determinación de los valores de hemograma de la tortuga taricaya (*Podocnemis Unifilis*) es de suma importancia para el diagnóstico de diversas enfermedades y para determinar la presencia de agentes etiológicos que puedan provocar alteraciones patológicas en estos animales, tanto en cautiverio como el los de vida libre.

Materiales y Método

Se tomaron muestras sanguíneas de 24 especímenes de *Podocnemis unifilis*, machos y hembras, de diferentes rangos etáreos,

¹ Unidad de Veterinaria – Parque Zoológico Huachipa, Lima – Perú. Av. Las Torres S/N°, Ate – Vitarte, Lima-13, Perú. Teléfono. (51 1) 3563141 anexo 120. E-mail: gianmarco_rojas@yahoo.com

² Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – Universidad Científica del Sur, Lima – Perú.

clínicamente sanos; éstos correspondían a toda la población de esta especie mantenida en cautiverio en las instalaciones del Parque Zoológico Huachipa, ubicado a una altitud de 406 msnm, 12° 00.872' latitud Sur y 76° 53.930' longitud Oeste, situado en el distrito de Ate Vitarte, Provincia de Lima, Región de Lima, Perú. Todos los muestreos se realizaron durante la primera semana del mes de diciembre de 2008.

Se colectó aproximadamente 1 ml de sangre de cada animal, utilizando jeringas descartables de 1 ml con una aguja N° 22 Gauge x 1 1/2, mediante punción de la vena coccígea dorsal, transferido inmediatamente a tubos con heparina lito y que fueron mantenidos en refrigeración para su posterior traslado y análisis en el laboratorio.

Se realizó la determinación de los valores de eritrograma, leucograma y conteo de trombocitos usando una dilución al 1:200 con la solución de Natt & Herrick¹⁵ y conteo en cámara de Neubauer. Para obtener los valores de eritrograma se multiplicó el número de eritrocitos observados en cinco campos del retículo central por 5000 y para obtener los valores de leucograma se consideraron los leucocitos coloreados en los retículos laterales multiplicados por 1000; finalmente, en el caso de los trombocitos, se realizó el conteo de estas células observadas en el retículo central de la cámara y el número resultante se multiplicó por 2000. Con esto, se obtuvo el número de cada tipo celular por cada mm³ de sangre. El conteo diferencial de leucocitos se realizó en base al análisis microscópico de los frotis sanguíneos realizados en el momento de toma de las muestras, secados al aire y teñidos por la técnica pancromática de May-Grünwald & Giemsa. La clasificación de las células de la serie blanca se realizó sobre la base de la terminología de tinción y morfológica propuesta por Hawkey y Dennet en 1994.¹⁶

El hematocrito se determinó por el método del microhematocrito y la concentración de la hemoglobina se estableció mezclando 20µl de sangre entera en 5,0 ml de reactivo de Drabkin (Wiener Laboratorios, Argentina). Después de la centrifugación de los núcleos de los eritrocitos, la concentración de cianmetahemoglobina fue medida espectrofotométricamente a una absorbancia de 1540 nm comparado los resultados con una solución estándar de 15,5 g/dl de hemoglobina (Wiener Laboratorios, Argentina). Los índices hematimétricos: Hemoglobina corpuscular media (HCM); Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM); Volumen corpuscular medio (VCM) se calcularon mediante las formulas de Wintrobe.

El análisis estadístico de los resultados se realizó con la metodología estadística paramétrica utilizando el software SPSS ver. 15.0. Los datos de la estadística analítica se expresan como media (X) ± desvío estándar (DS). La diferencia entre

sexos fue evaluada por medio de la prueba de "t" de Student y la media entre los rangos etéreos por medio de un Análisis de Varianza.

Resultados

Se colectaron muestras sanguíneas de 24 individuos, siendo 12 hembras y 12 machos, pertenecientes a tres rangos etéreos diferentes (cria, juvenil y adulto); los pesos de los animales muestreados variaron entre 75 a 2080 gr.

Los valores de hemograma encontrados en este estudio fueron los siguientes: Eritrograma (RBC) = 240,792 ± 62,299, Hemoglobina (g/dl) 4 ± 1.06, Hematocrito (%) 18 ± 3.34, VCM (fl) 802 ± 218, HCM (pg) 188 ± 57, CHCM (g/dl) 24 ± 5, Leucograma (WBC) 5,698 ± 1658, Azurófilos (%) 1 ± 1, Heterófilos (%) 20 ± 7, Eosinófilos (%) 2 ± 1, Basófilos (%) 1 ± 1, Monocitos (%) 3 ± 1, Linfocitos (%) 73 ± 7, Trombocitos 3,295 ± 1393. Tabla N° 1.

Se encontraron diferencias significativas en relación a los valores de hematocrito y número de trombocitos, obteniéndose mayores valores de hematocrito en las hembras y mayor número de trombocitos en los machos. Tabla N° 2.

En relación a la edad, no se encontraron diferencias significativas en los valores de hemograma para los diferentes rangos etéreos establecidos en el estudio.

Discusión

Existen muchos factores que pueden afectar, de manera significativa o no, los resultados del hemograma y, por consecuencia, la interpretación de los mismos, por esto debemos tener en consideración factores como el estrés, el local de punción venosa, la estación del año o el tipo de anticoagulante utilizado en la toma de muestra.

En general, los resultados de hemograma obtenidos para *P. unifilis* fueron similares a los obtenidos para *Testudo graeca* y *T. hermanni*¹⁷; sin embargo, estos mismos resultados difieren claramente de los resultados obtenidos para otras especies de quelonios, principalmente en relación a la línea leucocitaria, donde se observa una mayor proporción de linfocitos, a diferencia de lo registrado para *Chelonoidis chilensis* donde los eosinófilos presentan una mayor proporción que los demás leucocitos⁹, o en *Mauremys leprosa*, donde la proporción mayor de leucocitos correspondió a los Heterófilos¹⁸. Los casos de linfocitosis en tortugas pueden ocurrir en procesos de cicatrización de heridas, enfermedades inflamatorias o parasitosis; sin embargo, ninguno de estos procesos ocurría con los animales muestreados, entre tanto la linfocitosis también puede estar presente en procesos fisiológicos como la ecdisis.¹⁹

Tabla N° 1. Valores de hemograma completo de tortugas taricayas (*Podocnemis unifilis*) mantenidas en cautiverio en el PZH, Lima -Perú (n = 24)

Parámetros	Media	Desv. estándar	Val. Mínimo	Val. máximo
Eritrocitos (10 ⁶ µL)	240791	62298	140000	399000
Hgb (g/dl)	4.34	1.06	2.61	7.06
Hto (%)	18.29	3.34	12	26
VCM (fl)	801.69	218.59	348	1357
HCM (pg)	188.11	57.62	109	383
CHCM (g/dl)	24	5.46	15	37
Leucocitos(10 ³ µL)	5697	1658	3330	9879
Heterófilos (%)	20	7	8	32
Eosinófilos (%)	2	1	0	4
Basófilos (%)	1	1	0	3
Azurófilos (%)	1	1	0	4
Monocitos (%)	3	1	1	6
Linfocitos (%)	73	7	64	89
Trombocitos (%)	3295	1393	1221	6853

Tabla N° 2. Valores de hemograma completo para machos (n = 12) y hembras (n = 12) de tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) mantenidas en cautiverio en el PZH, Lima -Perú, expresados en media ± desvío estándar

Parámetros	Sexo	
	Macho	Hembra
Eritrocitos(10 ⁶ µL)	228250 ± 74360	253333 ± 47354
Hgb (g/dl)	3.93 ± 0.89	4.75 ± 1.10
Hto (%)	16.75 ± 2.66	19.83 ± 3.32
VCM (fl)	799.90 ± 266.85	803.48 ± 169.40
HCM (pg)	186.83 ± 74.25	189.40 ± 37.75
CHCM (g/dl)	23.80 ± 5.76	24.21 ± 5.39
Leucocitos(10 ³ µL)	5818 ± 1531	5577 ± 1835
Heterófilos (%)	21 ± 7	19 ± 8
Eosinófilos (%)	2 ± 1	2 ± 1
Basófilos (%)	1 ± 1	1 ± 1
Azurófilos (%)	2 ± 1	1 ± 1
Monocitos (%)	3 ± 1	3 ± 2
Linfocitos (%)	72 ± 7	74 ± 7
Trombocitos (%)	3934 ± 1560	2655 ± 854

En el caso de los resultados de las diferencias de hemograma en relación al sexo, los resultados obtenidos en este trabajo no correspondieron a datos previos reportados para otros reptiles donde generalmente los valores de hemograma son mayores en los machos^{20,21}, siendo que para *P. unifilis* las hembras presentaron valores de linfocitos, monocitos, heterófilos y trombocitos mayores a la de los machos. Del mismo

modo ocurrió con los resultados hallados para hematocrito, donde los mayores valores fueron para las hembras y no para los machos, como lo descrito para otras especies de quelonios como *Euseya novaeguineae*²² o *Kinixys erosa*.²³ Sin embargo, estos resultados concuerdan con los hallazgos obtenidos para *Chelonoidis chilensis*⁹. Si bien no se obtuvieron diferencias significativas entre los valores de VCM entre los diferentes sexos,

se pudo observar que los valores encontrados en las hembras fueron ligeramente mayores a los encontrados para los machos; este resultado si bien es diferente a lo encontrado para la mayoría de especies de quelonios, concuerda con los valores encontrados para *Mauremys leprosa*.¹⁸

Conclusiones

Los valores de hemograma de la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) pueden variar en relación al sexo de los animales, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los valores de hemograma para los diferentes rangos etáreos establecidos en el estudio.

Teniendo en consideración lo observado en el presente estudio, es importante concluir que los datos hematológicos en general no deben ser analizados considerando valores referenciales de otras especies de quelonios o de otros reptiles, ya que para algunos de los parámetros podríamos caer en el engaño y diagnosticar una patología inexistente.

No se pudo determinar la razón de la variación en los valores de hemograma obtenidos en el trabajo cuando se compararon a otras especies.

El presente trabajo es el primer estudio hematológico de *Podocnemis unifilis* realizado en el Perú.

Referencias bibliográficas

1. Fowler M, Miller E. Zoo and Wild Animal Medicine. 5th Edition. St. Louis, Missouri: Saunders; 2003.
2. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN Red List of Threatened Species: *Podocnemis unifilis*). 2009. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org/details/17825>; Consultado Julio 2, 2010.
3. Muro J, Cuenca R, Viñas L, Lavin S. Interés del hemograma en la clínica de quelonios. Veterinaria en Praxis; 1994, 9 (3): 24-29.
4. Salizar P, Sánchez L. Primer registro para el Perú de *Nematophila grandis* (Diesing, 1839) Travassos, 1934 (Trematoda, Diplostididae) en *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (Testudines, Pelomedusidae). Rev Peru biol; 2004, 11(1): 37- 40.
5. Sánchez N, Tantaleán M, Vela D, Méndez A. Parásitos gastrointestinales de la taricaya, *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (Testudines: Podocnemididae) de Iquitos, Perú. Rev Peru. biol; 2006, 13(1): 119 - 120
6. Mader DR. Reptile medicine and surgery. W.B. Saunders. Philadelphia-USA; 1996.
7. Wilkinson R. Clinical Pathology. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J. Medicine and surgery of tortoises and turtles.

Wiley-Blackwell Publishing. USA; 2004: 141-186.

8. Jacobson ER. Collection and Evaluation of Biologic Samples for Laboratory Analysis. In: Fowler ME, ed. Zoo And Wild Animal Medicine. Saunders. Philadelphia-USA; 1993: 144-152.
9. Troiano JC, Silva MC. Valores hematológicos de referencia en tortuga terrestre argentina (*Chelonoidis chilensis chilensis*). Analecta Veterinaria; 1998, 18 (1/2): 47-51.
10. Dickinson VM, Jarchow JL, Trueblood MH. Hematology and Plasma Biochemistry Reference Range Values For Free-Ranging Desert Tortoises In Arizona. J Wildlf Dis; 2002, 38(1): 143 – 153.
11. Brites VLC, Rantin FT. Hematología, bioquímica de sangre, parasitología, microbiología, algas epizoárias e histopatología de *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) (Testudinata, Chelidae), expostos a diferentes influências antrópicas no rio Uberabinha, Minas Gerais. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar; 2004, 7 (1).
12. Knotkova Z, Mazanek S, Hovorka M. Hematology and Plasma Chemistry of Bornean River Turtles Suffering from Shell Necrosis and Haemogregarine Parasites. Vet Med – Czech; 2005, 50(9):421-426.
13. Soini P. Un Manual para el Manejo de Quelonios Acuáticos en la Amazonía Peruana (Charapa, Taricaya y Cupiso). Iquitos. 1998.
14. Fachin T, Von Mülhen M. Reproducción de la Taricaya *Podocnemis Unifilis* (Troschel 1848) en la várzea del Medio Solimões, Amazonas, Brasil. Ecología Aplicada; 2003, 2(1): 125-132.
15. Otis V. Leucocyte and erythrocyte diluent for reptilian blood cells count. Copeia; 1974, 1: 253 - 255.
16. Hawkey CN, Dennet TB. A Color Atlas of Comparative Hematology. Wolfee Medical Publications Ltd. Ipswich. England; 1994.
17. Tosunoglu M, Tok V, Gül Ç. Hematological values in Hermann's tortoise (*Testudo hermanni*) and Spur-thigted Tortoise (*Testudo graeca*) from Thrace Region (Turkey). International Journal of Zoological Research; 2005, 1 (1): 11 – 14.
18. Hidalgo-Vila J, Diaz-Paniagua C, Pérez-Santigosa N, Plaza A, Camacho I, Recio F. Hematologic and Biochemical Reference Intervals of Free-Living Mediterranean Pond Turtles (*Mauremys leprosa*). J Wildlf Dis; 2007, 43(4): 798–801.
19. Campbell T. Hematology of Reptiles. In: Thrall A, Baker D, Campbell T, DeNicola D, Fettman M, Lassen E, Rebar A, Weiser G. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Blackwell Publishing. Iowa, USA; 2006: 259-271.
20. Frye F. Biomedical and Surgical Aspect of Captive Reptile

Husbandry. Second Enlarged Edition. Krieger Publishing Company. Florida, USA; 1991.

21. Christopher M, Berry K, Wallis E. Reference Intervals and Physiologic Alterations in Hematologic and Biochemical Values of Free-Ranging Desert Tortoises in the Mojave Desert. J Wildlf Dis; 1999, 35: 212-238
22. Anderson N, Wack R. The effects of temperature, sex and sample type on haematology and serum/plasma chemistry values for captive New Guinea snapping turtles *Elseya novaeguineae*. In: Proceedings of the 3rd Annual Conference of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians. Tampa. USA; 1996: 43 – 55.
23. Oyewale J, Ebute C, Ogunsanmi A, Olayemi F, Duroyote L. Weights and blood profiles of the West African Hinge-backed tortoise (*Kinixys erosa*) and the desert tortoise (*Gopherus agassizii*). Zentralbl. Veterinarmed; 1998, 45(10), 599 – 605.