



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Agropecuarias
Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Parámetros hematológicos en las tortugas de pantano *Chelydra acutirostris* y *Kinosternon leucostomum* en cautiverio

Trabajo de titulación previo a la obtención del
Título de Médico Veterinario Zootecnista.

Autora:

Flora Beatriz Neves De Carvalho De Icaza Oehlke

Correo electrónico: flora.beane@gmail.com

CI: 0921164307

Directora:

Dra. María Silvana Méndez Álvarez Mgt.

CI: 0102606373

Cuenca-Ecuador
10 de enero del 2022



RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue establecer los parámetros hematológicos: eritrograma, leucograma, recuento plaquetario y proteínas en las tortugas de pantano *Chelydra acutirostris* y *Kinosternon leucostomum* en cautiverio. El estudio se realizó en el Zoo Bioparque Amaru en Cuenca - Ecuador, a 2400-2500 m.s.n.m; en 60 quelonios semiacuáticos de pantano, 30 de cada especie; las tortugas se consideraron aparentemente sanas al momento de la recolección de la muestra. La muestra de sangre se obtuvo por venopunción de la vena supcarpacial en las *Kinosternon leucostomum* y de la coxígea en las *Chelydra acutirostris*, y fue procesada en el Laboratorio de anfibios y reptiles del Bioparque Amaru. Los resultados fueron analizados en el programa estadístico infostat, se estimaron los estadísticos básicos, e intervalos de confianza al 95% siendo los más relevantes en ambas especies los valores de VCM, HCM, GR, y los porcentajes de basófilos, monocitos, eosinófilos, heterófilos y linfocitos. Se realizó el coeficiente de correlación el cual mostró correlaciones fuertes y directas entre el Hto y la Hb, fuertes entre el Hto y Hb con el VCM y la HCM, medias e inversas entre el porcentaje de basófilos con el porcentaje de monocitos, fuerte e inversa de los GR con el VCM y la HCM, del porcentaje de heterófilos con el porcentaje de basófilos. Por medio de la comparación para muestras independientes de Mann Whitney observamos diferencia estadística de los parámetros: Hto, Hb, VCM, HCM, proteínas, porcentaje de heterófilos y eosinófilos; porcentaje y valor absoluto de basófilos y linfocitos entre ambas especies. Los valores descritos pueden estar influenciados por la temperatura ambiente de 13 – 22°C mostrando una posible anemia macrocítica por brumación/ prehibernación o letargia por frío.

Palabras clave: Hematología. Quelonias. Tortugas de barro. Tortugas de agua dulce. *Chelydra acutirostris*. *Kinosternon leucostomum*.



ABSTRACT

The objective of this study was to establish the hematological parameters: erythrogram, leukogram, platelet count and proteins in the mud turtles *Chelydra acutirostris* and *Kinosternon leucostomum* in captivity. The study was carried out at the Zoo Bioparque Amaru in Cuenca - Ecuador, at 2400-2500 m.a.s.l.; in 60 semi-aquatic swamp chelonians, 30 of each species; the turtles were considered apparently healthy at the time of sample collection. The blood sample was obtained by venipuncture from the supracarpal vein in *Kinosternon leucostomum* and from the coccygeal vein in *Chelydra acutirostris*, and was processed at the Amphibian and Reptile Laboratory of Bioparque Amaru. The results were analyzed in the statistical program infostat, the basic statistics and 95% confidence intervals were estimated, being the most relevant in both species the values of VCM, HCM, GR, and the percentages of basophils, monocytes, eosinophils, heterophils and lymphocytes. The correlation coefficient showed strong and direct correlations between Hto and Hb, strong correlations between Hto and Hb with VCM and HCM, medium and inverse correlations between the percentage of basophils with the percentage of monocytes, strong and inverse correlations of RBCs with VCM and HCM, and of the percentage of heterophils with the percentage of basophils. Using Mann Whitney independent samples comparison we observed statistical difference of the parameters: Hto, Hb, VCM, HCM, proteins, percentage of heterophils and eosinophils; percentage and absolute value of basophil and lymphocytes between both species. The values described may be influenced by the ambient temperature of 13 - 22°C showing a possible macrocytic anemia due to brumation/prehibernation or cold lethargy.

Key words: Hematology. Chelonians. Mud turtles. Freshwater turtles. *Chelydra acutirostris*. *Kinosternon leucostomum*.



ÍNDICE DE CONTENIDO GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	8
CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL	9
AGRADECIMIENTOS	10
DEDICATORIA	11
ABREVIATURAS	12
1. INTRODUCCIÓN	13
1.1. Objetivos	15
1.2. Pregunta de investigación	15
2. REVISIÓN DE LITERATURA	16
Tortugas.....	16
Anatomía	17
Sistema Tegumentario	17
Órganos Internos	19
Sistema reproductor	21
Órganos de los sentidos	22
Tortugas acuáticas- semiacuáticas.....	23
Principales amenazas de las tortugas semi-acuáticas	24
Tortuga <i>Chelydra acutirostris</i>	25
Tortuga <i>Kinosternon leucostomum</i>	26
Hematología en reptiles.....	27
Eritrocitos	28
Leucocitos	30
Trombocitos o plaquetas	34
Hematocrito	35
Hemoglobina	35
Parámetros eritrocitarios	36
Proteínas	37
3. MATERIALES Y MÉTODOS	39
3.1. Materiales	39
3.1.1. Biológicos	39



3.1.2. Físicos (insumos o consumibles)	39
3.1.3. Químicos y Reactivos.....	39
3.1.4. Material de laboratorio y equipos.....	39
3.1.5. Material de oficina	40
3.2. Métodos.....	40
3.2.1. Área de estudio	40
3.2.2. Unidad de análisis.....	42
3.3. Metodología.....	42
3.3.1. Toma de Muestra	42
3.3.2. Hematocrito	42
3.3.3. Proteínas	43
3.3.4. Recuento celular y fórmula.....	43
3.4. Análisis estadístico	44
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
5. CONCLUSIONES.....	59
6. RECOMENDACIONES.....	60
7. BIBLIOGRAFÍA.....	61
8. ANEXOS	68



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Hto, GR, Hb y parámetros eritrocitarios de las tortugas <i>Kinosternon leucostomum</i> en cautiverio (n=30)	46
Tabla 2: GB y fórmula leucocitaria de las tortugas <i>Kinosternon leucostomum</i> en cautiverio (n=30)	46
Tabla 3: Trombocitos y proteína plasmática de las tortugas <i>Kinosternon leucostomum</i> en cautiverio (n=30)	50
Tabla 4: Hto, GR, Hb y parámetros eritrocitarios de las tortugas <i>Chelydra acutirostris</i> en cautiverio (n=30)	50
Tabla 5: GB y fórmula leucocitaria de las tortugas <i>Chelydra acutirostris</i> en cautiverio (n=30)	52
Tabla 6: Trombocitos y proteína plasmática de las tortugas <i>Chelydra acutirostris</i> en cautiverio (n=30)	52
Tabla 7: Análisis de normalidad de Shapiro Wilks de los parámetros hematológicos de las tortugas <i>Kinosternon leucostomum</i>	54
Tabla 8: Análisis de normalidad de Shapiro Wilks de los parámetros hematológicos de las tortugas <i>Chelydra acutirostris</i>	55
Tabla 9: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos: GR, HTO, HB, parámetros eritrocitarios, trombocitos y proteínas totales de las tortugas <i>Kinosternon leucostomum</i> en cautiverio (n=30)	55
Tabla 10: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos: GR, HTO, HB, parámetros eritrocitarios, trombocitos y proteínas totales de las tortugas <i>Chelydra acutirostris</i> en cautiverio (n=30)	56
Tabla 11: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos: trombocitos, GB y fórmula leucocitaria de las tortugas <i>Kinosternon leucostomum</i> en cautiverio (n=30)	56
Tabla 12: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos: trombocitos, GB y fórmula leucocitaria de las tortugas <i>Chelydra acutirostris</i> en cautiverio (n=30)	57
Tabla 13: Comparación entre los parámetros hematológicos obtenidos en <i>Chelydra acutirostris</i> (c.a.) Y <i>Kinosternon leucostomum</i> (k.l.).	58



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esqueleto de las Chelonias	17
Figura 2: Órganos internos.....	19
Figura 3: Tortuga <i>Chelydra Acutirostris</i>	25
Figura 4: Tortuga <i>Kinosternon leucostomum</i>	26
Figura 5: GR <i>Chelonia Mydas</i>	29
Figura 6: GR Binucleado.....	29
Figura 7: GR inmaduro y maduro	30
Figura 8: Heterófilo.....	31
Figura 9: Eosinófilo sano.....	31
Figura 10: Eosinófilo maduro y un eosinófilo inmaduro	32
Figura 11: Basófilo sano	32
Figura 12: Basófilo roto (sano)	33
Figura 13: Monocito	33
Figura 14: Linfocito.....	34
Figura 15: 2 trombocitos	35
Figura 16: Ubicación del Zoo Bioparque Amaru.	41
Figura 17: Área y divisiones del Zoo Bioparque Amaru.....	41



ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Parámetros hematológicos de las tortugas taparrabo (<i>Kinosternon leucostomum</i>) en cautiverio.	68
Anexo 2: Parámetros hematológicos de las tortugas mordedoras (<i>Chelydra acutirostris</i>) en cautiverio	69
Anexo 3: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos Hto, Hb, VCM, HCM, CHCM, proteínas, y trombocitos de las <i>Kinosternon leucostomum</i> en cautiverio.....	70
Anexo 4: Correlación de Spearman los parámetros hematológicos GB, heterófilos, eosinófilos, linfocitos, basófilos, monocitos, y trombocitos de las <i>Kinosternon leucostomum</i> en cautiverio.....	71
Anexo 5: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos Hto, Hb, VCM, HCM, CHCM, proteínas, y trombocitos de las <i>Chelydra acutirostris</i> en cautiverio.	72
Anexo 6: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos GB, heterófilos, eosinófilos, linfocitos, basófilos, monocitos, y trombocitos de las <i>Chelydra acutirostris</i> en cautiverio.	73
Anexo 7: Tabla de referencia de las células hematológicas encontradas en Chelonias teñidas con Diff Quik. Fotos de autoría propia, e información recopilada de toda la bibliografía utilizada en esta investigación.....	74
Anexo 8: Causas de aumento y disminución de los parámetros hematológicos Hto, proteína, Hb, VCM, HCM, CHCM	76
Anexo 9: Fotos de especímenes <i>Chelydra acutirostris</i>	77
Anexo 10: Fotos de especímenes <i>Kinosternon leucostomum</i>	78
Anexo 11: Hoja de campo y laboratorio.....	79
Anexo 12: Aprobación de la investigación por el MAAE	81



CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL.

Flora Beatriz Neves De Carvalho de Icaza Oehlke en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “Parámetros hematológicos en las tortugas de pantano *Chelydra acutirostris* y *Kinosternon leucostomum* en cautiverio” de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 10 de enero del 2022

Flora Beatriz Neves De Carvalho De Icaza Oehlke.

C.I: 0921164307



CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Flora Beatriz Neves De Carvalho De Icaza Oehlke, autora del trabajo de titulación “Parámetros hematológicos en las tortugas de pantano *Chelydra acutirostris* y *Kinosternon leucostomum* en cautiverio”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 10 de enero del 2022.

Flora Beatriz Neves De Carvalho De Icaza Oehlke.

C.I: 0921164307



AGRADECIMIENTOS

A mi familia y amigos por siempre apoyarme e incentivarme a seguir mis sueños.

A los profesores que expanden sus conocimientos a otras especies y campos de investigación incentivando el interés de sus alumnos. En particular a mi directora de tesis Dra. Silvana Méndez Álvarez y delegados por depositar su confianza en mí y brindarme su apoyo durante la carrera y especialmente en este trabajo de titulación.

A las MVZ Paola Cañar y Noemí Torres, Bióloga Ximena Cevallos, MVZ y jefa de salud de la Fundación zoológica de Cali Juliana Peña, y el Biólogo Ernesto Arbeláez, propietario del Bioparque Zoo Amaru, Mgter Christian Corral por brindarme su apoyo y compartir sus conocimientos, espacio, materiales y hacer posible esta investigación.



DEDICATORIA

A mi familia, amigos y todo amante de la naturaleza.



ABREVIATURAS

Hto: hematocrito

Prot: proteína

GR: glóbulos rojos

GB: glóbulos blancos

Hb: hemoglobina

HCM: hemoglobina corpuscular media

VCM: volumen corpuscular medio

CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media

Het: heterófilos.

Eos: eosinófilos.

Bas: basófilos.

Mon: monocitos.

Linfo: linfocitos.

Tromb: trombocitos.

LCC: largo curvo del caparazón.

LAC: largo ancho del caparazón.

LRC: largo recto del caparazón.

UICN: International Union for Conservation of Nature

K.I.: *Kinosternon leucostomum*.

C.a.: *Chelydra acutirostris*.



1. INTRODUCCIÓN

Ecuador posee una gran biodiversidad de fauna, gran parte de la cual está en peligro o amenaza de extinción por diversas causas, entre ellas la degradación y fragmentación de sus ecosistemas a mano del hombre. Las tortugas de pantano *Chelydra acutirostris* y *Kinosternon leucostomum* que llegan al Zoo Bioparque Amaru provienen del tráfico ilegal de vida silvestre y vienen con distintas lesiones y patologías causadas por el mal manejo y cuidado de sus captores.

Los análisis de muestras sanguíneas son formas prácticas no invasivas y no letales de conocer el estado de salud de las tortugas en cautiverio o libres (Peter M. DiGeronimo, 2018). Los parámetros hematológicos y la bioquímica sanguínea son herramientas útiles al momento de manejar, prevenir y tratar enfermedades en los animales y sus poblaciones; por lo cual, es de gran importancia establecer valores hematológicos específicos para cada especie de tortuga (Lewbart GA, 2018) debido a que el conteo y la morfología celular varían enormemente entre las más de 8000 especies de reptiles, y entre individuos de la misma familia (Nicole I. Stacy A. R., 2011). Además, la interpretación precisa de los hemogramas debe considerar las respuestas frente a condiciones fisiológicas y/o ambientales como edad, sexo, estado reproductivo, dieta, clima, posición geográfica e incluso las fases preanalíticas, analítica y postanalítica del método utilizado (Alfredo José Montilla, 2014). El estudio tanto de animales sanos como de enfermos ya sea en cautiverio o en vida libre pueden proporcionar una gran ayuda al momento de establecer un plan de manejo y conservación de especies en peligro de extinción, siendo de gran importancia describir dentro de la investigación los factores anteriormente mencionados para que se dé el uso y la interpretación adecuada de los parámetros hematológicos utilizados (Feiyan Zhang, 2011).

Existen estudios similares en varias familias de Chelonias y se cuenta con valores referenciales hematológicos y serológicos de distintas especies de tortugas (Nantarika Chansue, 2011; Williams, 2012; Giulia Andreani E. C., 2014;



Giulia Andreani E. C., 2014; Pu-Yu Yang, 2014; Muñoz-Pérez JP, 2017; Justin F. Rosenberg, 2018; J. Jill Heatley, 2020). Sin embargo a nivel mundial y local hasta la fecha existen pocos estudios hematológicos en tortugas en comparación a los que se han reportado en mamíferos; además, existen muchas especies sin parámetros hematológicos establecidos, algunos imprecisos o no nombran aspectos externos como el clima que podrían alterar los resultados investigados.

La escasa información sobre parámetros hematológicos de estas dos especies genera un inconveniente al momento de realizar la evaluación clínica veterinaria; por lo que, con esta investigación se generó información local con el fin de elaborar una base de datos de valores hematológicos encontrados en las tortugas *Chelydra acutirostris* y *Kinosternon leucostomum*, en cautiverio en Cuenca-Ecuador. Estas especies están dentro de las consideradas vulnerables y amenazadas de extinción en el Ecuador; por lo cual, su rehabilitación y reintroducción es de gran necesidad e implica un elevado valor ecológico para el país.



1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general.

Establecer los parámetros hematológicos en las tortugas de pantano *Chelydra acutirostris* y *Kinosternon leucostomum* que permanecen en el Zoo Bioparque Amaru en Cuenca-Ecuador.

1.1.2. Objetivos específicos

- Determinar los componentes de los parámetros hematológicos básicos en las tortugas *Chelydra acutirostris* y *Kinosternon leucostomum* en cautiverio dentro del Zoo Bioparque Amaru.
- Analizar las correlaciones entre los parámetros hematológicos de las tortugas *Chelydra acutirostris* y *Kinosternon leucostomum*.
- Comparar los valores hematológicos entre las tortugas *Chelydra acutirostris* y *Kinosternon leucostomum*.

1.2. Pregunta de investigación

¿Existe diferencia entre los parámetros hematológicos de las especies *Chelydra acutirostris* y *Kinosternon leucostomum* en cautiverio?



2. REVISIÓN DE LITERATURA

Tortugas

Las tortugas o quelonios son criaturas sorprendentes, consideradas fósiles vivientes desde su aparición 225 millones de años atrás (Young, 2004), sus características físicas no han sufrido mayores variaciones, convirtiéndolas en un éxito de la evolución que les ha permitido superar diversas catástrofes incluyendo la destrucción de los dinosaurios y muchas otras especies (Avanzi, 2016); sin embargo, la aparición del *Homo-sapiens* (humanos) y su rápido crecimiento y desarrollo en áreas urbanas ha causado que sus hábitats se vean disminuidos, sean cazadas para el consumo y fuertemente traficadas a nivel global (Don Moll, 2004). Esto ha ocasionado que la mayor parte de ellas estén consideradas como vulnerables, en riesgo de extinción o extintas (IUCN, 2020). Los quelonios son fácilmente reconocibles, presentan una coraza formada aproximadamente por 60 huesos dérmicos (O'Malley, 2007) y revestidos por materia córnea-escamas (Lema, 2002), está compuesta de una parte dorsal convexa llamada espaldar o caparazón y una parte inferior aplanada llamada plastrón o peto (Fuentes, 2003). La forma del caparazón indica el hábitat al que pertenecen. Las especies terrestres tienen un caparazón más abombado y las especies acuáticas uno más aplanado, además la presencia de membrana interdigital sugiere hábitos acuáticos (Martha Lucía Calderon Espinosa, 2019). La rigidez corporal impuesta por esta estructura protectora se ve compensada por una mandíbula aserrada fuerte con músculos abductores potentes que les da la capacidad de generar mordiscos con una fuerza extraordinaria (O'Malley, 2007) y un cuello de notable movilidad que se pliega en el plano sagital o en el plano horizontal dependiendo de la familia a la que pertenecen (J.C. Fontanilla, 2000).

Las tortugas forman parte del reino Animalia, de la clase Reptilia, del orden Testudines y son clasificadas dentro de 14 familias (John Legler, 2013), se las puede encontrar en tierra, ríos y mares, a lo largo de todos los continentes a excepción de la Antártida (Franklin, 2007). Las Chelonias juegan un papel importante en los ecosistemas acuáticos y terrestres, por ejemplo: en la

dispersión de semillas, el ciclo de minerales y almacenando carbono (Craig B. Stanford, 2020).

El Ecuador posee 35 especies de tortugas, las mismas están dentro de la lista de especies vulnerables, en peligro crítico de extinción y no evaluadas (Torres-Carvajal, 2020).

Anatomía

Sistema Tegumentario

La piel de las tortugas varía de lisa y sin escamas a gruesa y escamosa. Como en los demás reptiles las mudas ocurren periódicamente, pero a diferencia de los lagartos y serpientes la muda se da por partes, en algunos casos es mal interpretada y se genera un diagnóstico erróneo de hongos en las escamas.

Sistema músculo-esquelético.

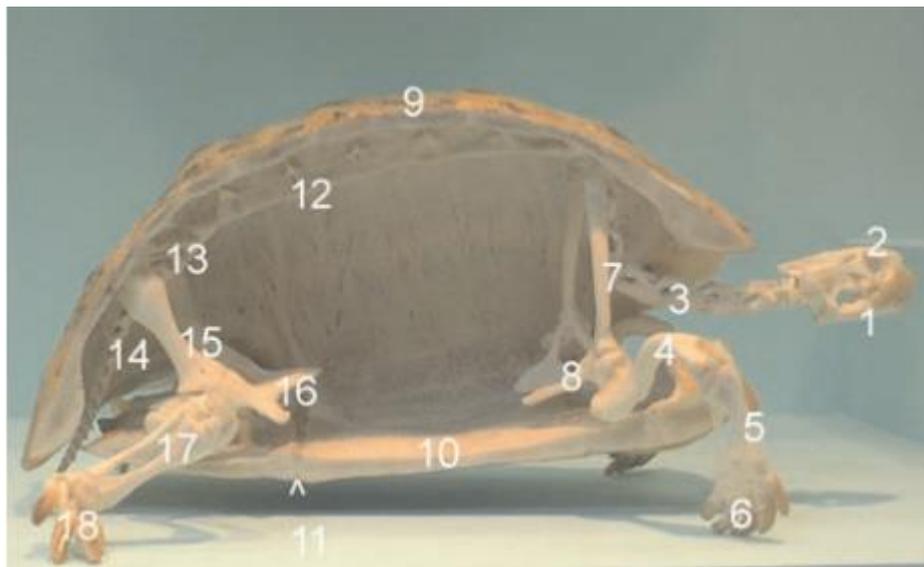


Figura 1: Esqueleto de las Chelonias. (1) Mandíbula (2) Cráneo (3) Vértebras Cervicales (4) Húmero (5) Radio y Cúbito (6) Huesos carpianos (7) Coracoides (8) Escápula (9) Caparazón (10) Plastrón (11) Unión del caparazón (12) Vértebras Lumbares (13) Vértebras Sacras (14) Vértebras Coccígeas (15) Íleo (16) Pubis (17) Tibia y Peroné (18) Huesos tarsales. Fuente: Libro Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles 2004.

Caparazón. - La coraza de las tortugas está formada generalmente por 59 huesos: 50 del caparazón: 19 huesos pares (38 huesos) y 12-13 huesos impares, y 9 del plastrón: 4 huesos pares (8 huesos), y 1 impar (Jeanette Wyneken, 2007).



La parte interna del caparazón está formado por placas dermato-óseas y huesos modificados de las cintura axilar y pelviana, las vértebras torácicas, sacras y las costillas (O'Malley, 2007). La capa ósea está recubierta por una capa epitelial queratinizada, generalmente formada por un promedio de 38 escamas en el caparazón y 16 en el plastrón; sin embargo, esto puede variar según la especie y la forma del caparazón (Jeanette Wyneken, 2007). Las tortugas producen nuevos escudos queratinizados con cada periodo de crecimiento y retienen (terrestres) o mudan (semiacuáticas y acuáticas) las escamas anteriores. Los escudos crecen hacia afuera desde su núcleo central y cada año se forma un nuevo escudo debajo del escudo anterior formando un nuevo anillo similar a los anillos de crecimiento de los árboles (Stephen J. Divers S. J., 2019).

Vértebras. - Las tortugas tienen 18 vértebras pre-sacras: 8 cervicales y 10 troncales (presentan uniones con las costillas que a su vez se fusionan con las placas dermato-óseas). Las vértebras cervicales y caudales son independientes permitiendo el movimiento y flexibilidad del cuello y la cola (O'Malley, 2007).

Cinturas de los miembros. - Las cinturas torácica y pélvica están encajadas en las costillas y actúan como pilares verticales de refuerzo sobre los que se sustenta el caparazón. Se unen al plastrón y al caparazón por medio de músculos pectorales y pélvicos en forma de abanico, estos son las masas musculares más grandes de las tortugas y son extremadamente poderosos. Entre la base de los miembros y el caparazón se deposita la grasa, es por esto que a los animales obesos se les dificulta la retracción de la cabeza y la respiración (O'Malley, 2007).

La cintura torácica está formada por el epiplastrón (clavícula), el entoplastrón (interclavícula), la escápula, el acromion y el coracoides, mientras que la cintura pélvica está conformada por los huesos ilion, isquion y pubis que confluyen en el acetábulo (O'Malley, 2007).

Extremidades. - El húmero y el fémur son cortos con las epífisis engrosadas, los huesos del carpo y tarso están fusionados para aumentar la fortaleza de las extremidades, las cuales están recubiertas de escamas, la mayoría de las

tortugas presentan cinco fuertes y afiladas garras que les permite excavar y defenderse (O'Malley, 2007).

Órganos Internos

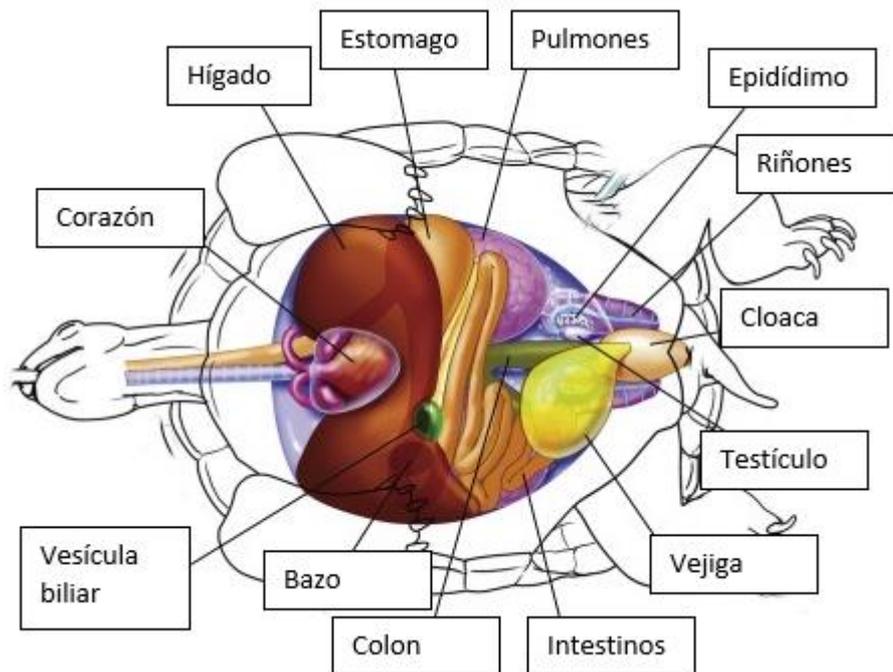


Figura 2: Órganos internos. Fuente libro Current therapy in reptile medicine and surgery, traducción Flora Neves.

Las tortugas a diferencia de otras especies animales como los mamíferos poseen una cavidad única llamada cavidad celómica donde se encuentran todos los órganos, esta no está dividida en tórax y abdomen debido a que los quelonios no poseen músculo diafragmático (Millefanti, 2016).

Los pulmones se encuentran unidos dorsalmente al periostio del caparazón y a las cinturas torácica y pelviana ocupando un gran espacio en la mitad dorsal de la cavidad celómica, este volumen o espacio se ve reducido a la quinta parte cuando estos animales retraen la cabeza y extremidades (O'Malley, 2007). Ventralmente se encuentran separados por el *septum horizontale*, que está unido al hígado, estómago, y tracto intestinal (Stephen J. Divers S. J., 2019). Los pulmones están unidos a una tráquea doble de anillos completos que se bifurca a nivel del cuello. Son esponjosos y están divididos por 3 a 11 cámaras/lóbulos



de tabiques de tejido conectivo dependiendo de la familia a la que pertenecen (Millefanti, 2016).

El corazón se encuentra en el plano medio, ligeramente caudal a la cintura torácica en la cavidad pericárdica (O'Malley, 2007), está dividido en tres cavidades: dos aurículas y un ventrículo que a su vez está dividido en tres cavidades: pulmonar, venosa y arterial (Millefanti, 2016).

El hígado es muy grande y ocupa la mitad anterior de la cavidad celómica junto con el corazón y los músculos pectorales (Marta Avanzi, 2019), está dividido en 2 lóbulos: derecho e izquierdo, en caso de estar presente la vesícula biliar se encuentra junto al lóbulo derecho (O'Malley, 2007).

El estómago se encuentra en la porción ventral izquierda, caudal al hígado. Es simple (cámara única) con paredes gruesas, consta de un esfínter gastroesofágico izquierdo y uno pilórico en el centro, y presenta dos curvaturas mayores y menores (O'Malley, 2007) (Stephen J. Divers S. J., 2019). Produce enzimas digestivas de forma similar a la de los mamíferos (Marta Avanzi, 2019) ya que posee una válvula gaso-esofagal y una pilórica (Stephen J. Divers D. R., 2005).

El intestino delgado es relativamente corto, levemente complejo y absorbe nutrientes y agua. Se une con el intestino grueso en la valva ileo-cólica (Stephen J. Divers S. J., 2019).

El intestino grueso es el principal sitio de fermentación bacteriana en las tortugas herbívoras, incluye el ciego, colon ascendente, transverso y descendente. El ciego no está bien desarrollado, es más una expansión del colon proximal y no tiene unión mesentérica. El colon ascendente y descendente tienen pequeñas uniones mesentéricas y el colon transverso tiene una mayor área de unión mesentérica al estómago dándole una mayor movilidad dorsoventral. El colon termina en el coprodeo de la cloaca (Stephen J. Divers S. J., 2019).



Los riñones están simétricamente dispuestos detrás del acetábulo en la parte caudal del caparazón, son grandes, aplanados y lobulados (O'Malley, 2007). Los uréteres son cortos y vacían su contenido a la vejiga urinaria, de aquí el contenido pasa a la uretra que desemboca en el urodeo ventral y por medio del antiperistaltismo la orina se mueve de forma anterior al coprodeo y colon donde el agua puede ser reabsorbida (John Chitty, 2013).

La cloaca es una estructura tubular corta de gran diámetro que termina en el orificio cloacal (John Chitty, 2013), está compuesta por tres compartimientos: el coprodeo que recibe las heces, el urodeo donde desemboca la orina y el proctodeo que es una cámara común de recogida antes de la evacuación (Marta Avanzi, 2019).

Sistema reproductor

Tortugas macho. - presentan en la cavidad celómica caudal (John Chitty, 2013) dos testículos amarillos-blanquecinos, alargados de forma oval, asociados al polo craneoventral de los riñones (O'Malley, 2007). Los conductos deferentes discurren paralelos a los uréteres hasta la cloaca (O'Malley, 2007). El proctodeo está modificado en la parte ventral y engrosado para formar el pene, este es único e impar a diferencia de otros reptiles como las serpientes y lagartos que poseen dos hemipenes, y no está atravesado por la uretra (Millefanti, 2016). El pene está compuesto de dos pares de haces de tejido fibroso, este tejido es muy vascularizado y aumenta de tamaño al penetrar en la cloaca de la hembra, una vez acabada la cópula el pene regresa a su posición dentro de la cloaca, gracias al músculo retractor (O'Malley, 2007).

Tortugas hembra. - presentan dos ovarios, craneales a los riñones y su tamaño dependerá del momento de actividad folicular en el que se encuentre (John Chitty, 2013). El esperma puede ser almacenado en el útero incluso por algunos años después de la cópula, de esta manera las tortugas pueden fertilizar sus huevos al momento de la puesta (O'Malley, 2007). Los folículos pasan directamente a través de la porción glandular al área magna donde se agrega la



albúmina, luego pasan a la zona de la glándula del cascarón donde este se adhiere, estos huevos son depositados en el área vaginal hasta el momento de la deposición (John Chitty, 2013). El sexo de estos huevos dependerá de la temperatura de incubación, de esta manera si las temperaturas son altas nacerán más hembras y si son frías nacerán más machos, es por esto que el calentamiento global juega un papel crítico en las distintas especies de tortugas terrestres, acuáticas y marinas (Northland College, 2015).

Dimorfismo sexual. - en los quelonios puede verse en la coloración, el tamaño de la cola o las garras, y la forma y tamaño del caparazón dependiendo de cada especie. La forma más utilizada para determinar el sexo de las tortugas es por medio del tamaño y forma de la cola ya que en muchas especies el macho tiene una cola más alargada y gruesa debido a la presencia del pene dentro de la cloaca y el orificio cloacal estará más distante del caparazón (Stephen J. Divers D. R., 2005).

Órganos de los sentidos

Los ojos y la visión. - Los quelonios presentan una membrana nictitante bien desarrollada, y poseen párpados funcionales y fisuras palpebrales al igual que los mamíferos, en ellas el párpado inferior es más largo y móvil (John Chitty, 2013) (O'Malley, 2007). Las tortugas tienen buena visión a colores ya que poseen tanto conos como bastones y en algunas especies se ha descrito visión ultravioleta (John Chitty, 2013).

El olfato. - Está bien desarrollado, y se presume que es un estímulo importante al momento de alimentarse (John Chitty, 2013), está asentado en la cavidad nasal como el órgano de Jacobson, sin embargo en los quelonios este órgano no se observa como una bolsa sino como un área concreta de epitelio olfatorio (O'Malley, 2007).

El oído y la audición. - No poseen un oído externo (oreja), pero se puede apreciar la escama timpánica fácilmente, ubicadas posterior a los ojos en forma



de un pequeño círculo, el hueso de la *columela auris* o bastoncillo transfiere las vibraciones desde el tímpano al interior del oído (Stephen J. Divers S. J., 2019). Los quelonios tienen una audición débil y solo escuchan sonidos de frecuencia baja, con un rango de audición entre los 50 y 1500 Hz comparado al humano que puede escuchar de 20 a 20000 Hz (O'Malley, 2007).

Cavidad oral y sentido del gusto. - No poseen dientes, pero poseen un fuerte pico córneo con bordes afilados formado por la unión de dos mandíbulas, esta resistente estructura les permite arrancar pedazos de su comida. La lengua de los quelonios es gruesa y carnosa con numerosas papilas gustativas y no puede ser protruida fuera de la cavidad oral (O'Malley, 2007).

Tortugas acuáticas- semiacuáticas

El intervalo de vida de las tortugas acuáticas en su medio natural no se conoce con especificidad; sin embargo, en cautiverio tienen un intervalo de vida entre los 25 y 30 años (Millefanti, 2016).

Las tortugas son animales heliótermos, es decir necesitan de la temperatura ambiente para regular su temperatura corporal, la cual varía entre los 22 y 33°C, por esta razón es común verlas tomando sol si el clima está frío, o bajo sombra o dentro del agua si el clima es muy caliente (O'Malley, 2007).

Los quelonios de agua dulce están bien adaptados a la vida acuática y aunque su principal forma de respiración es pulmonar, pueden soportar amplios periodos de apnea incluso durante algunas semanas (las tortugas acuáticas en letargo natural durante la época fría se sumergen en el barro del fondo de los lagos, ríos, o estanques) (Millefanti, 2016) y utilizan su metabolismo anaerobio a través de la respiración epitelial, faríngea o cloacal. Esto es posible porque las tortugas consiguen asimilar el oxígeno disuelto en el agua bombeada desde el exterior, la faringe se cubre por una mucosa particularmente vascularizada, y la cloaca posee unos discretos sacos anales y cloacales muy vascularizados, la abertura rítmica de la cloaca forma una corriente débil hacia el interior de la misma (Marta Avanzi, 2019). Los quelonios nadan moviendo sus extremidades de forma



alternada o caminan sobre el fondo de las lagunas, ríos o pantanos (O'Malley, 2007).

Otra particularidad de las tortugas acuáticas es que eliminan sobre todo uratos y amoníaco por medio de su sistema urinario, no urea como los mamíferos (Millefanti, 2016).

Principales amenazas de las tortugas semi-acuáticas

Las poblaciones de Chelonias están declinando de manera abrupta debido a pérdida del hábitat, alto consumo humano para: comida (huevos y carne de tortuga), medicina tradicional (grasa y aceite como cicatrizante y bronceador), producción de joyería, gafas, peines, y adornos (el caparazón), y el tráfico ilegal (animales de colección). La contaminación del agua por insumos agrícolas, petróleo y residuos de la minería (mercurio, cianuro y plomo), el cambio del volumen, fluidez y ruptura de aproximadamente 48% de los ríos del planeta por mano del hombre y el calentamiento global, también han tenido un importante impacto en las tortugas a nivel mundial; finalmente, la falta de estudios biológicos y veterinarios sobre las especies se convierten en otro factor predisponente a la amenaza de extinción de estos especímenes puesto que sin información no se pueden tomar medidas de cuidado, protección y precaución de las tortugas y sus hábitats (Bonilla M.A., 2012) (Craig B. Stanford, 2020) .

El tráfico ilegal de especies implica un rubro alto dentro del mercado negro a nivel mundial, llegando a ser la cuarta actividad ilegal más desarrollada luego del tráfico de personas, armas y drogas (Lehmacher, 2016). Debido a su gran biodiversidad, el Ecuador es un punto clave en el tráfico nacional e internacional de diversas especies de fauna y flora. Entre el 2003 y 2014 el MAE registró 4165 reptiles, 2331 mamíferos ,1881 aves, 440 peces y 413 anfibios traficados (Ecología El Universo, 2017). Entre los reptiles más traficados están las Chelonias, consideradas dentro de los vertebrados como el grupo de mayor riesgo de extinción debido a que de las 365 especies que existen en el mundo el 61% se encuentra amenazada o en riesgo crítico llegando a considerarse

extintas (Alarcon, 2018). Las tortugas de pantano *Kinosternon leucostomum* y *Chelydra acutirostris* se encuentran dentro de la lista roja y amarilla de animales en peligro de extinción y vulnerables del Ecuador respectivamente, y pertenecen a los alarmantes números del tráfico ilegal de fauna mencionados anteriormente. (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2017).

Tortuga *Chelydra acutirostris*



Figura 3: Tortuga *Chelydra Acutirostris*. Especimen número 6.

También conocida como tortuga mordedora o tortuga caimán, originalmente fue descrita por el alemán Wilhelm Karl Hartwich Peters en 1862 como una variante de la *Chelydra serpentina* a partir de un holotipo de un neonato en las cercanías de Ecuador, sin embargo, evidencias genéticas la categorizaron como una especie verdadera e independiente. Es mejor conocida como mordedora debido a su comportamiento agresivo al sentirse amenazada fuera del agua (Adriana Caterine Regalado Tabares, 2012). En la actualidad se encuentra dentro de la lista roja del Ecuador como especie vulnerable (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2017), y no está evaluada en la categoría global de la UICN (International Union for Conservation of Nature), se la puede observar en pantanos, ríos, lagunas, sistemas de riego, estanques y arroyos pequeños en Colombia, Ecuador, Honduras, Nicaragua y Panamá (Adriana Caterine Regalado Tabares, 2012). En Ecuador se la ha reportado en Esmeraldas, Manabí, Guayas, Los Ríos, Pichincha y Santo Domingo de los Tsáchilas. Sus regiones naturales son el bosque húmedo tropical del Chocó y el Bosque Piemontano occidental (Torres-Carvajal, 2020).



Las tortugas mordedoras son una especie relativamente grande, llegando a superar los 12kg, la longitud del caparazón varía entre 31,9 a 34,5cm, tiene forma ovalada, con 24 placas marginales, 5 vertebrales y 8 costales, en los adultos tiene un color pardo oscuro, con un patrón de líneas que irradian sobre cada escudo (Adriana Caterine Regalado Tabares, 2012), por otro lado, el plastrón es muy reducido, de color amarillento, en forma de cruz dejando expuestas gran porción de las extremidades y partes blandas (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2017). La cabeza es alargada y ancha con un hocico angosto y puntiagudo (maxilar con poderoso gancho apical), el mentón consta de 1 o 2 pares de barbillas submandibulares, su cola es ancha y larga, sus extremidades son grandes, y robustas terminando en grandes garras (Bonilla M.A., 2012).

Poseen una alimentación omnívora, consumen vegetación acuática, pequeños vertebrados, y en algunas ocasiones carroña (Adriana Caterine Regalado Tabares, 2012).

Amenazas: Disminución de su territorio, desecación de áreas pantanosas, contaminación del agua con agroquímicos, alta comercialización y consumo de su carne y huevos (Bonilla M.A., 2012).

Tortuga *Kinosternon leucostomum*



Figura 4: Tortuga *Kinosternon leucostomum*. Espécimen número 1

Conocida como tortuga taparrabo o cajita, se encuentra dentro de los animales en peligro de extinción de la lista roja del Ecuador, y como no evaluada en la UICN (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2017). Se la puede observar compartiendo territorio con la tortuga *Chelydra acutirostris* en pozos, pantanos,



ríos entre otros medios semiacuáticos en Belice, Costa Rica, Colombia, Ecuador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua y Panamá (Alan Giraldo, 2012). En Ecuador se la observa en el Bosque Húmedo Tropical del Chocó, Bosque Piemontano Occidental y el Bosque Deciduo de la costa, se la ha reportado en Esmeraldas, Guayas, Los Ríos, Sto. Domingo de los Tsáchilas, Pichincha y Cañar (Torres-Carvajal, 2020).

Es una tortuga pequeña con una longitud recta de caparazón (LC) de 16 cm, éste es liso, de color café oscuro con negro (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2017). El plastrón tiene una coloración café amarillenta, es ancho y posee dos lóbulos o escudos, uno anterior y uno posterior, móviles, lo que permite que la tortuga pueda ingresar de manera completa dentro de su concha para protegerse de sus depredadores, la cabeza tiene 2 colores; café oscuro en la región dorsal y amarillo en la región ventral y maxilar; su cuello también posee ambos colores, pero las líneas van desvaneciéndose con la edad y transformándose en puntos (Bonilla M.A., 2012). Al igual que la tortuga mordedora su alimentación es omnívora, esta incluye pequeños moluscos e insectos, peces y renacuajos, hojas, frutos, vegetación acuática y en algunos casos carroña (Alan Giraldo, 2012).

Amenazas: consumo humano y el tráfico ilegal (Bonilla M.A., 2012).

Hematología en reptiles

La hematología es una excelente herramienta diagnóstica para conocer el estado de salud de nuestros pacientes, debido a que los cambios fisiológicos o patológicos de la mayoría de tejidos y órganos se reflejan de manera directa o indirecta en la sangre (Silva, 2019).

Para obtener mejores resultados se recomienda realizar el análisis hematológico justo después de la extracción de sangre debido a que exposiciones prolongadas a los anticoagulantes generan cambios morfológicos en las células y aumenta los artificios como manchas celulares. No se recomienda el uso de EDTA para la recolección de muestra de sangre en reptiles debido a que puede ocasionar hemólisis especialmente en los Quelonios (Vickie Joseph, 2015). La Heparina a



razón de 1-3 mg/ml se considera el anticoagulante de elección en reptiles, principalmente en Quelonios (Silvestre, 2006).

Para extraer la sangre en los reptiles se debe seleccionar de manera correcta el punto de venopunción para no causar linfohemorragia (artificio habitual en las muestras de sangre) debido a que su sistema linfático está más desarrollado que el venoso, presentando vastas redes linfáticas plexiformes y cisternas que ocupan el lugar de los linfonodos de los mamíferos, los principales troncos linfáticos son el yugular, subclavio, lumbar y torácico. El volumen sanguíneo normal de los reptiles es del 5-8 % de su peso corporal, y se puede extraer hasta un 10 % de este volumen para análisis hematológicos y bioquímicos de sangre (O'Malley, 2007). Para la mayoría de reptiles se recomienda el uso de agujas de calibres 27G a 22G y jeringas de 3mL para preservar la integridad celular y minimizar la activación trombocitaria ya que el flujo pasa de forma lenta por la aguja a la jeringa con una presión de aspiración baja (Stephen J. Divers S. J., 2019).

Técnica de recuento: se recomienda realizarla de forma manual debido a la presencia de eritrocitos y trombocitos nucleados que dificulta la interpretación de los resultados obtenidos con contadores automatizados (A. Martínez-Silvestre, 2011).

Identificación celular: se la realiza en el frotis sanguíneo teñido, utilizando la tinción de Diff-Quik (Silvestre, 2006).

Eritrocitos

Los eritrocitos o glóbulos rojos (GR) de los reptiles son más largos que los de las aves y mamíferos, pero menores que los de anfibios (Vickie Joseph, 2015). Tienen una forma elíptica con extremos redondeados y un núcleo redondo a oval en posición central, con un intervalo de vida de 600-800 días (J. Jill Heatley, 2020). En animales sanos se puede encontrar eritrocitos en mitosis. La detección de morfología anómala, binuclear o actividad mitótica nos pueden indicar que el animal presenta una respuesta regenerativa marcada que puede deberse a una



anemia por hibernación prolongada, una enfermedad inflamatoria importante, o malnutrición. Por otro lado, si se observan eritrocitos inmaduros (células redondas ligeramente irregulares con un núcleo redondeado grande y citoplasma basofílico) puede tratarse de animales en periodo de muda, jóvenes, o infectados por hemoparásitos (A. Martínez-Silvestre, 2011).

Los reptiles tienen bajos valores de eritrocitos (300.000 - 2;500.000 Cel/ μ L) (Douglas R. Mader, 2014) debido a que existe una relación inversa entre el total de GR y el tamaño de los mismos. Las Chelonias tienen los eritrocitos más grandes entre los reptiles (VCM >500) y como resultado un número menor de eritrocitos (500.000 Cel/ μ L) (Stephen J. Divers S. J., 2019). En la especie *Chelydra serpentina* se han reportado intervalos de 154.166 - 530.000 Cel/ μ L (Çiçek, 2014)

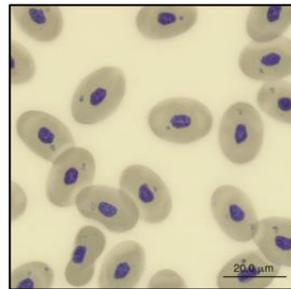


Figura 5: GR *Chelonia Mydas*

Fuente: Current therapy in reptile medicine and surgery (Douglas R. Mader, 2014).

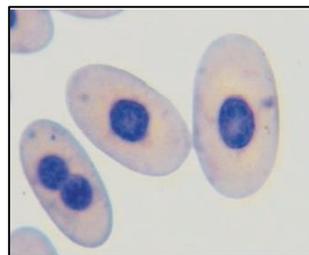


Figura 6: GR Binucleado

Fuente: Medicine and surgery of tortoises and turtles (Stuart McArthur, 2004).

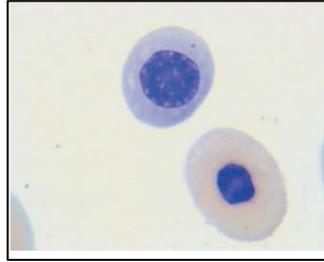


Figura 7: GR inmaduro y maduro

Fuente: Medicine and surgery of tortoises and turtles (Stuart McArthur, 2004).

Leucocitos

Los leucocitos o glóbulos blancos (GB) pueden ser clasificados como granulocitos (heterófilos, eosinófilos, basófilos) y células mononucleadas (linfocitos, monocitos, azurófilos) (Nicole I. Stacy A. R., 2011) cumplen un papel de defensa contra agentes infecciosos. Factores excéntricos (temperatura, época del año, estresores, capturas e inmovilizaciones, hibernación) y distintos agentes patógenos pueden causar un efecto marcado en el leucograma de los reptiles (Campbell, 2014). La cuenta manual de leucocitos sigue siendo la más aceptada y usada; sin embargo, tiene un error inherente de aproximadamente 20 % aun si se utiliza personal experimentado, por esto se recomienda que en las investigaciones se especifique el método utilizado, estado del espécimen y de ser posible ciertos caracteres intrínsecos y extrínsecos del animal. (Stephen J. Divers S. J., 2019)

Heterófilos: son células grandes y redondeadas, funcionalmente equivalentes al neutrófilo de los mamíferos, normalmente son las más abundantes (Vickie Joseph, 2015). La diferencia entre neutrófilos y heterófilos radica en la producción de Peroxidasa y Fosfatasa ácida; enzimas generadas por los neutrófilos para desintegrar material necrótico; Los heterófilos de los reptiles dependen del método no oxidativo de fagocitosis y contienen B-defensinas que contiene un amplio espectro de actividad contra agentes infecciosos, debido a esto los reptiles no producen un material purulento líquido y sí una pus caseosa (Stephen J. Divers S. J., 2019) (Bassert, 2016). En algunas tortugas consta de un núcleo lobulado; sin embargo, en la mayoría de las especies su núcleo es ligeramente excéntrico y no lobulado, su citoplasma tiende a ser granuloso y se

tiñe de color naranja brillante, puede haber algunos gránulos opacos en la misma célula (Silvestre, 2006). Incrementos significativos en el recuento puede indicar enfermedades inflamatorias, especialmente infecciosas o con daño tisular. Si además se presentan heterófilos inmaduros podemos asociarlo a una respuesta inflamatoria con etiología infecciosa. La presencia de un núcleo lobular en las especies que no lo poseen indica una inflamación severa (A. Martínez-Silvestre, 2011).

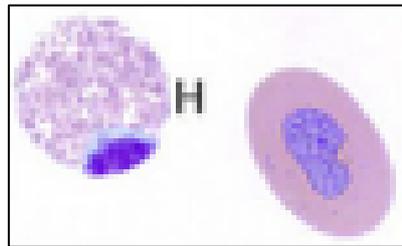


Figura 8: Heterófilo

Fuente: Clinics in laboratory medicine journal (Nicole I. Stacy A. R., 2011).

Eosinófilos: son células redondas con un núcleo muy excéntrico y un citoplasma muy granulado, con una respuesta positiva a la tinción magenta-eosinofílica de Diff Quik (DQ) (Silvestre, 2006); en algunas especies de tortugas pueden representar hasta un 20% de los leucocitos. Un aumento en su recuento puede indicar hibernación, infecciones parasitarias, estimulación del sistema inmune (A. Martínez-Silvestre, 2011).

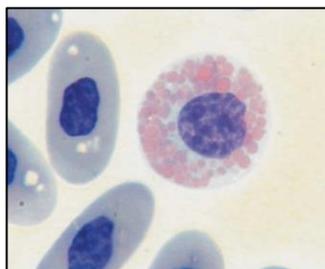


Figura 9: Eosinófilo sano

Fuente: Medicine and surgery of tortoises and turtles (Stuart McArthur, 2004).

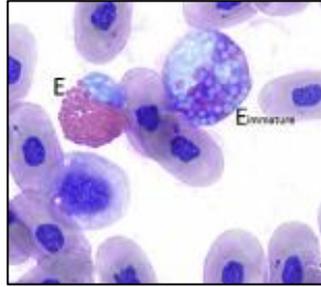


Figura 10: Eosinófilo maduro y un eosinófilo inmaduro.
Fuente: Clinics in laboratory medicine journal (Nicole I. Stacy A. R., 2011).

Basófilos: son células redondas, pequeñas en comparación con los eosinófilos, sus gránulos son redondos y fuertemente teñidos, llegando en muchas ocasiones a enmascarar su núcleo céntrico. Contienen Histamina y su función es similar a la de los basófilos en los mamíferos (Vickie Joseph, 2015) (Bob Doneley, 2018). Un número alto de basófilos en los reptiles se ve relacionado a la presencia de parásitos principalmente intestinales, e infecciones virales y en algunas especies se lo ha relacionado con el Invierno (A. Martínez-Silvestre, 2011); sin embargo, en algunos quelonios como la tortuga de desierto *Gopherus agassizii* puede ser equivalente al 40 % de los leucocitos, en las tortugas *Chelydra serpentina* y *Trachemys* es normal encontrar un valor elevado y en la especie acuática *Pseudemys ruiventris* es el tipo celular predominante (J. Jill Heatley, 2020). Se ha reportado valores elevados desde 40-65 % en especímenes sanos de algunos quelonios (Stephen J. Divers S. J., 2019), por ejemplo, en las tortugas *Chelydra serpentina* se ha reportado valores de hasta 50–63 % de la fórmula leucocitaria (Perpiñán, 2008).

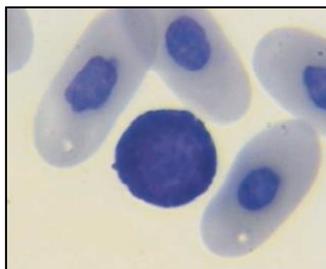


Figura 11: Basófilo sano.

Fuente: Medicine and surgery of tortoises and turtles (Stuart McArthur, 2004).

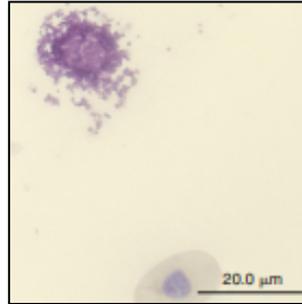


Figura 12: Basófilo roto (sano).

Fuente: Current therapy in reptile medicine and surgery (Douglas R. Mader, 2014).

Monocitos: son las células blancas de mayor tamaño en la sangre periférica, su forma varía desde redonda a ameboide, con un núcleo pleomórfico (oval, redondeo o lobulado) (A. Martínez-Silvestre, 2011), tienen capacidad fagocitaria y están presentes en enfermedades inflamatorias crónicas (Vickie Joseph, 2015). Su aumento puede deberse a hibernación, estomatitis, nefritis crónica, y hepatitis granulomatosa. En caso de observar eritro-fagocitosis y leuco-fagocitosis se puede asociar con anemia (A. Martínez-Silvestre, 2011). Su disminución indica trastornos de médula ósea, radiación o enfermedades autoinmunes (Stuart McArthur, 2004) (Bob Doneley, 2018).

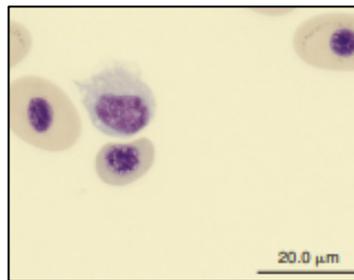


Figura 13: Monocito

Fuente: Current therapy in reptile medicine and surgery (Douglas R. Mader, 2014).

Azurófilos: son células sanguíneas específicas de los reptiles. Se las ve generalmente en cocodrilos y ocasionalmente en tortugas. Son morfológicamente similares a los granulocitos y monocitos. Son células redondas con un borde citoplasmático marcado, su citoplasma es de un color gris-azulado con algunos pequeños gránulos azurófilos a morados. El núcleo es redondo a oval excéntrico y ligeramente pleomórfico. Existe diferencia de conceptos de



autores sobre su contabilización, por lo cual se recomienda hacer su conteo de forma separada en serpientes y lagartos y junto con los monocitos en otros reptiles (Nicole I. Stacy A. R., 2011).

Linfocitos: son pequeños con escaso citoplasma, en los reptiles pueden ser confundidos con los trombocitos (Vickie Joseph, 2015), en ocasiones se pueden observar adheridas a otras células, su núcleo es circular, situado céntricamente. Su aumento puede deberse al sexo (hembras de algunas especies tienen un número mayor), edad (en la especie de tortuga marina *Caretta caretta* se aprecia un aumento en tortugas más viejas), época del año (Verano) o a una estimulación del sistema inmune a causa de inflamación, infecciones parasitarias, víricas, neoplasias, cicatrización de heridas (Stuart Mc. Arthur, 2004) (William J. Reagan, 2008). Su disminución se debe a enfermedades crónicas inmunosupresoras, estrés, malnutrición crónica, hibernación, anorexia, o muestra contaminada (A. Martínez-Silvestre, 2011).

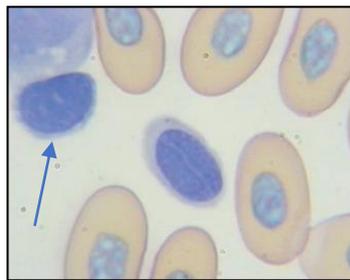


Figura 14: Linfocito.

Fuente: Medicine and surgery of tortoises and turtles (Stuart McArthur, 2004)

Trombocitos o plaquetas

Son las segundas células más abundantes en sangre periférica, su principal función es la hemostasia (Vickie Joseph, 2015). Son elípticas con un núcleo oval céntrico, su citoplasma es casi transparente. Debido a su función de cicatrización y coagulación tienden a agregarse, en algunos reptiles se ha observado que pueden transportar oxígeno para cubrir las necesidades cuando existen pérdidas eritrocitarias (Sobotta, 2008) (A. Martínez-Silvestre, 2011). Su aumento puede deberse a hemorragias, infecciones o anemia hemolítica, y su disminución está



relacionada con enfermedades de la médula ósea, cirrosis, deficiencia de vitamina B12 o anemia aplásica.

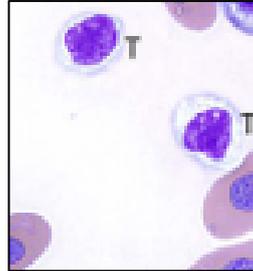


Figura 15: 2 trombocitos.

Fuente: clinics in laboratory medicine journal (Nicole I. Stacy A. R., 2011).

Hematocrito

Denominado en inglés Packed Cell Volume (PCV) para diferenciar el realizado en máquinas (no recomendado) del centrifugado (recomendado); es el volumen ocupado por los hematíes contenidos en 100 ml de sangre, es decir indica la cantidad de eritrocitos por volumen de sangre, se expresa en porcentaje (Calendaria Juste de Santa-Ana, 2015) (Stephen J. Divers S. J., 2019).

El hematocrito (Hto) normal de los reptiles varía entre 15-55 %, valores superiores indican hemoconcentración por edad avanzada, Otoño, deshidratación, anemia no regenerativa, y valores menores al 10 % indican la necesidad de una transfusión sanguínea (A. Martínez-Silvestre, 2011).

Hemoglobina

Proteína conjugada de los eritrocitos que se encarga del transporte de Oxígeno, puede ser determinada por contadores automáticos, espectrofotómetros (Calendaria Juste de Santa-Ana, 2015) o por medio de la fórmula de relación hematocrito/hemoglobina, tomando en cuenta que el valor del hematocrito por 1000 es aproximadamente tres veces el valor de la (Hb) expresada en g/L (S. Mitchell Lewis, 2007), esta relación consiste en calcular la Hb al dividir el Hto para un factor entre 3 y 3,3, esta es una proporción matemática que solo se



cumple si los individuos están sanos por lo cual en pacientes con anemia o con eritrocitos alterados puede dejar de cumplirse (Mariela Forrellat-Barrios, 2010). Sus intervalos observados son generalmente bajos de 5.1–12.0 g/dL (Stephen J. Divers S. J., 2019), y generalmente los valores son menores a 10 g/dL (ELLIS, 2013)

$$\text{Hb} = \frac{\text{Hematocrito (Hto)}}{3 \text{ o } 3,3}$$

(Mariela Forrellat-Barrios, 2010)

Parámetros eritrocitarios

Son parte del conteo sanguíneo completo y sirven para diagnosticar afecciones en GR, y diferenciar tipos de anemia (U.S. Department of Health and Human Services & National Institutes of Health, 2020).

Volumen corpuscular medio (VCM): es el tamaño promedio de los GR. Los valores publicados varían entre 160- 950 fl (ELLIS, 2013), y en la mayoría de reptiles el MCV de eritrocitos maduros varía de 200-1200 fl; en Chelonias se puede apreciar intervalos mayores de 500 fl (Douglas R. Mader, 2014). Se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\text{VCM} = \frac{\text{Hematocrito (\%)}}{\# \text{ GR (Cel/L)}} \times 10$$

(Rodney Rhoades, 2009)

Hemoglobina corpuscular media (HCM): indica el peso/cantidad de hemoglobina por GR. En los reptiles los rangos van entre 60.2–270.8 pg con una



media de 125.5 ± 46.8 pg (Stephen J. Divers S. J., 2019). Para su cálculo se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hemoglobina en sangre} \times 10}{\# \text{ GR (Cel/L)}}$$

(Rodney Rhoades, 2009)

Concentración de Hemoglobina corpuscular media (CHCM): es la cantidad de hemoglobina relativa al tamaño de la célula por GR. En los reptiles los valores oscilan entre 20% and 40% (g/dl) (ELLIS, 2013) con una media de 31.1 ± 4.0 g/dl, también se describen rangos entre 22.5 – 39.3 g/dl (Stephen J. Divers S. J., 2019) Se la obtiene por la siguiente fórmula:

$$\text{CHCM} = \frac{\text{Hemoglobina en sangre} \times 100}{\text{Hematocrito}}$$

(Rodney Rhoades, 2009)

Proteínas

El análisis de la proteína en el plasma sanguíneo se realiza de manera similar que, en otras especies por medio del refractómetro, el principio por el cual se utiliza este método se debe al hecho de que las proteínas en una solución (plasma) causan un cambio en el índice refractivo, el cual se considerará como el valor proporcional de proteínas totales (Feldman, 2004).

Las proteínas totales incluyen cientos de proteínas que son sintetizadas principalmente en el hígado, ellas mantienen la presión oncótica que preserva el volumen de líquidos corporales, protegen el organismo de patógenos y ayudan a la coagulación y transporte de hormonas y sustancias : ácidos biliares, ácidos



grasos libres, medicamentos (J. Jill Heatley, 2020). Sus valores se incrementan en casos de deshidratación, enfermedades crónicas, o lipemia, y vitellogenosis en hembras (Stephen J. Divers S. J., 2019), y disminuyen en casos de desnutrición, disfunción hepática, enfermedad renal, desórdenes gástricos (mala absorción, mala digestión) e infección parasitaria (Vickie Joseph, 2015). La concentración total de proteínas en reptiles sanos oscila entre los 3-7 g/dl (30-70 g/L) sin embargo difiere según la especie y se ha observado valores de 20 g/L en tortugas aparentemente sanas (Douglas R. Mader, 2014).

En la mayoría de reptiles se considera hiperproteinemia en valores mayores a los 70g/L e hipoproteinemia con valores menores a los 30 g/L. Los reptiles en cautiverio pueden exhibir mejores concentraciones en los valores de proteína totales en comparación a las mismas especies en vida silvestres debido a periodos prolongados de dietas en alta cantidad proteica (Douglas R. Mader, 2014)



3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Biológicos

- 30 tortugas *Chelydra acutirostris*
- 30 tortugas *Kinosternon leucostomum*.
- 60 muestras de sangre total

3.1.2. Físicos (insumos o consumibles)

- Mascarilla
- Guantes
- Cajas plásticas grandes
- Algodón
- Hisopos
- Jeringas de 3ml con aguja 23Gx1 (azul)
- Tubos pequeños con heparina
- Lápiz
- Corrector no tóxico.

3.1.3. Químicos y Reactivos

- Tinción de Diff Quik
- Diluyente de Natt & Herrick

3.1.4. Material de laboratorio y equipos

- Cámara de Neubauer



- Micro hematocrito
- Porta objetos
- Pipeta de Thomson
- Centrífuga
- Microscopio
- Refractómetro

3.1.5. Material de oficina

- Computadora
- Cámara fotográfica
- Programa estadístico
- Registros
- Libreta de apuntes

3.2. Métodos

3.2.1. Área de estudio

La presente investigación se realizó en el *Zoo Bioparque Amaru* localizado en el cantón Cuenca, provincia del Azuay, parroquia Paccha, ubicado a 11 km del centro de la ciudad de Cuenca, conectado por la Autopista Cuenca-Azogues, en las coordenadas: -2.894023, -78.95690; a 2400 – 2500 m.s.n.m. La temperatura de Cuenca generalmente varía de 7 °C a 17 °C y rara vez baja a menos de 5°C o sube a más de 23°C. El Bioparque posee una superficie de 6.25 hectáreas y una población de alrededor de 1.500 animales silvestres entre mamíferos, aves, reptiles y anfibios, distribuidos en cinco bioregiones (Región Andina, Bosque Seco, Amazonía, Islas Encantadas y África Salvaje). Se utilizó el área de cautiverio y exposición de reptiles, el laboratorio de anfibios y reptiles del Bioparque para realizar el estudio hematológico.

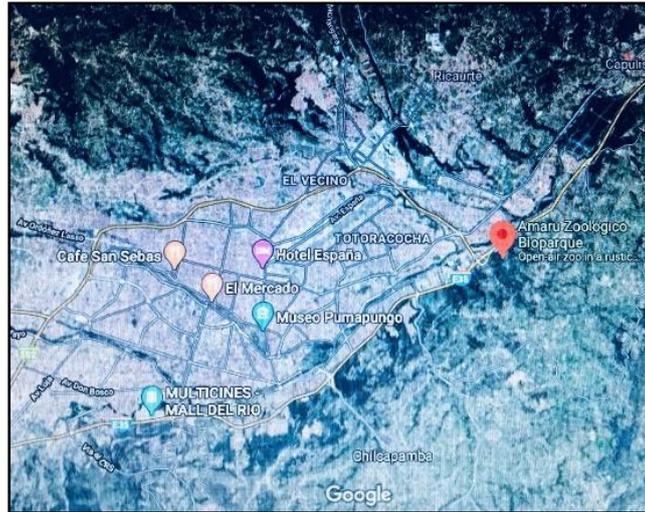


Figura 16: Ubicación del Zoo Bioparque Amaru.

Fuente: Google Maps 2020 (GOOGLE, 2020).



Figura 17: Área y divisiones del Zoo Bioparque Amaru.

Fuente: Zoo Bioparque Amaru.



3.2.2. Unidad de análisis

La muestra constó de un total de 60 especímenes (30 tortugas *Chelydra acutirostris* y 30 tortugas *Kinosternon leucostomum*) aparentemente sanas mantenidas en cautiverio dentro de las instalaciones del Bioparque.

3.3. Metodología

3.3.1. Toma de Muestra

Se realizó la captura de 2 a 4 individuos por día, fueron trasladados al laboratorio de anfibios y reptiles del Zoo Bioparque Amaru en donde se realizó un examen morfométrico y físico objetivo general de los mismos para confirmar su aparente estado de salud. Se esperó entre una y dos horas y se realizó la extracción de la muestra sanguínea de la vena coccígea en las tortugas *Chelydra acutirostris* y de la subcarpacial en las tortugas *Kinosternon leucostomum* con una jeringa de 3ml con aguja de calibre 23Gx1, la sangre obtenida se depositó en tubos de heparina de 1ml para su posterior análisis.

Al momento de realizar el muestreo las temperaturas fluctuaron entre 13°C los días más fríos y 22°C los más cálidos. Las temperaturas fueron tomadas dentro y fuera de los tortugarios, según su área de cautiverio. Los 60 especímenes utilizados en este estudio fueron marcados en su caparazón con corrector no tóxico y devueltos a su área de cautiverio.

3.3.2. Hematocrito

Por capilaridad se colocó la sangre en el microtúbulo y luego fue centrifugado a 1200 G, 11.000 r.p.m. por 5 min, luego se colocó el microtúbulo sobre la tabla o carta de lectura de hematocritos (Europa Labware) y se observó el valor porcentual del hematocrito.



3.3.3. Proteínas

Se colocó una gota del plasma sanguíneo contenido en el microtúbulo en la paleta de sólidos totales del refractómetro manual (ADE advanced optics RHC-30), cerramos la tapa plástica para que se disperse el plasma sobre el prisma y se procedió a observar el nivel de proteínas de la muestra.

3.3.4. Recuento celular y fórmula

3.3.4.1. Frotis sanguíneo y tinción de Diff Quik

En el portaobjetos previamente marcado con el número de la tortuga se colocó una gota de sangre y se realizó el extendido del frotis sanguíneo utilizando otro portaobjeto en 45°. Una vez seco se procedió a la tinción en donde se realizaron 8 - 10 inmersiones en cada reactivo de la tinción de Diff Quik (fijador, Eosina, Basófila blue), y un enjuague final para eliminar el excedente, una vez seco se observó al microscopio con lente de 40X y se procedió al conteo de las células para determinar la fórmula leucocitaria y los trombocitos, procedimientos que se describen posteriormente

3.3.4.2. Recuentos de glóbulos rojos y blancos: Cámara de Neubauer

Se tomaron 995 microlitros de la Solución de Natt & Herrick con una pipeta automática, con el fin de no contaminar esta solución dicha cantidad se colocó en un recipiente aparte, con la pipeta de Thomson se absorbió hasta 0,5 o 0,2 (dependiendo del tipo de numeración de la pipeta) de sangre y se completó hasta llegar al 1 o 101 con Solución de Natt & Herrick consiguiendo una dilución de 1:200; luego de 1-3 minutos se eliminó las primeras 3 gotas y se colocó la cuarta gota en la cámara de Neubauer, finalmente se procedió al conteo con el lente de 40X en el microscopio.



El resultado obtenido de GR fue multiplicado por 10.000, y el resultado de GB por 200 para obtener el número de eritrocitos y leucocitos por microlitro respectivamente.

3.3.4.3. Fórmula leucocitaria- Recuento de glóbulos blancos en el frotis sanguíneo

Se realizó el conteo de 100 GB para obtener la fórmula leucocitaria porcentual o relativa, con el valor obtenido por medio de una regla de tres simple se obtuvo la fórmula leucocitaria absoluta.

3.3.4.4. Recuento de Trombocitos

Se realizó el conteo de los trombocitos presentes en 10 campos del frotis sanguíneo con el lente de 100X, y el promedio obtenido se multiplicó por 20.000 para obtener el número de células por microlitro. Además de la técnica descrita como método de análisis objetivo de la normalidad en la cantidad de trombocitos se realizó la observación del frotis completo según lo sugerido y explicado en el webinar “Hematología en especies no domésticas” dictado por Nicole I. Stacy de la Universidad de Miami (2020). Con este tipo de conteo, el investigador determina si el número de trombos es normal, aumentado o disminuido permitiendo conocer de forma objetiva si existe alguna alteración en su conteo.

3.3.4.5. Hemoglobina y Parámetros eritrocitarios (VCM, HCM, CHCM)

Fueron obtenidos mediante las fórmulas descritas por Rodney Rhoades, (2009).

3.4. Análisis estadístico

Para el análisis de las variables en estudio, los datos registrados fueron introducidos en el programa informático de Microsoft Excel y posteriormente analizados en el programa estadístico infostat.



Para el Objetivo Especifico 1 se realizaron los estadígrafos de tendencia central, media y mediana y los de dispersión: desviación estándar, error estándar de la media y el coeficiente de variación, cuartiles Q1 y Q3 y los intervalos de confianza al 95%.

En el Objetivo Especifico 2 se determinó si las variables siguen la distribución normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk y si existía correlación entre las variables utilizando la correlación de Spearman.

Finalmente, para el Objetivo Especifico 3 se realizó la prueba de comparación de muestras independientes de Mann-Whitney.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros hematológicos de las tortugas *Kinosternon leucostomum* se aprecian en las tablas 1 a la 4 y de las tortugas *Chelydra acutirostris* pueden ser observados en las tablas 5 a la 8.

Tabla 1: Hto, GR, Hb y parámetros eritrocitarios de las tortugas *Kinosternon leucostomum* en cautiverio (n=30)

Parámetro	Min	Max	Media	Mediana	CV	E.E	IC 95%	
							LI	LS
Hto (%)	15	27	21,43	20	14,3	0,56	20,29	22,58
GR (Cel/ μ L)	190.800	534.000	411.800	419.000	24,9	18.735	373.482	450.118
Hb (g/dl)	5	9	7,2	7	12,3	0,16	6,87	7,53
VCM (fl)	362	1048	563,7	511,5	35,5	36,6	488,9	638,4
HCM (pg)	121	349	187,9	170,5	35,5	12,2	163,0	212,7
CHCM (g/dl)	33	33	33	33	0,0	0	33	33

CV (Coeficiente de Variación), E.E. (Error Estándar), IC (Intervalo de confianza), LI (límite inferior), LS (límite superior).

Con relación al Hto, la media encontrada es de 21,43 % similar a la reportada por Edwar J. Acero (22.38 \pm 3.41%) en su investigación: Valores hematológicos de *Amazona amazónica*, *Amazona ochrocephala*, *Cebus apella*, *Cebus albifrons*, *Saimiri sciureus*, *Saguinus leucopus*, *Geochelone carbonaria*, *Boa constrictor* y *Kinosternon leucostomum* en el Centro de Recepción y Rehabilitación de Fauna Silvestre del Dama CRRFS (2004); sin embargo, difiere de la media obtenida en el Zoo de Cali (28,88 %, valores aun no publicados), compartidos por Juliana Peña, jefa del Área de Salud (base de datos *Kinosternon leucostomum* 2009-2018); esta variación podría deberse a que las tortugas examinadas están en dos zonas geográficas diferentes con una temperatura ambiental distinta y se consideraría como un factor que afecta indirectamente este parámetro. Por otro lado, los valores mínimo y máximo del Hto reportados por A. Martínez-Silvestre, (2011) son de 15-55 %; y se observa que el valor mínimo coincide con la presente investigación, mientras que el máximo difiere, esto probablemente porque el autor indica los valores referenciales de todos los reptiles tomando en consideración un compendio de diferentes especies lo que corrobora la



importancia de determinar los parámetros hematológicos de cada especie en particular.

En la Hb se observa una media y mediana cercanas, lo cual indica un centro claro de los datos, que estadísticamente avala la consistencia y confianza de los resultados. Con relación a los valores mínimos y máximos de Hb, HCM y CHCM los resultados coinciden con lo descrito para Chelonias por Douglas R. Mader, & Stephen J. Divers, (2014). De la misma manera los valores de HCM (pg) y los CHCM (g/dl) se encuentran dentro de los intervalos de valores descritos en reptiles 60.2–270.8 pg y 20-40 g/dl por Stephen J. Divers, & Scott J. Stahl, (2019) respectivamente.

Los límites inferior y superior en el IC 95 % del parámetro VCM son mayores a los descritos por Edwar J Acero (283,07-346,85 fl) y los del Zoo de Cali (177-238 fl); con relación a la media, valor mínimo y valor máximo coinciden con los descritos para Chelonias (500fl); al igual que el intervalo referencial que coincide con los valores de los reptiles publicados (Douglas R. Mader, & Stephen J. Divers 2014). Se conoce que el VCM es un parámetro eritrocitario que se obtiene mediante fórmula y que depende de la determinación del Hto y el conteo de GR; por lo que la diferencia en los LI y LS podría deberse a los métodos de obtención de los parámetros hematológicos, en esta investigación el Hto se obtuvo por centrifugación y se realizó el conteo manual de los GR, debido a que son los métodos más recomendados en reptiles; sin embargo se debe considerar que existe un error de hasta el 20% en los conteos manuales pudiendo ocasionar variaciones en los resultados (Stephen J. Divers S. J., 2019). Al observar el valor de la media de GR obtuvimos un resultado menor al reportado por Edwar J. Acero ($0.73 \pm 0.133 \cdot 10^6 / \mu\text{L}$) y el descrito para Chelonias 500.000 Cel/ μL por Stephen J. Divers 2019; sin embargo, se encuentra dentro de los valores descritos para reptiles 300.000 – 2,500.000 Cel/ μL por Douglas R. Mader, & Stephen J. Divers, (2014) y es superior al descrito por el Zoo de Cali. El valor del VCM puede verse aumentado por varios factores, pero al relacionarlo con los GR y en vista de que no se encontraron hemoparásitos y los animales muestreados no demostraban signos de anorexia, esta disminución parcial de GR en conjunto con el aumento de VCM podría deberse a una anemia macrocítica causada por la constante exposición a temperaturas entre 13 y 22°C



lo que les lleva a un estado cíclico de brumación/letargia por frío, ocasionando en las noches y días con temperaturas bajas una disminución casi total del metabolismo provocando bradipnea y bradicardia fisiológicas y la alimentación pasa a segundo plano; además, las tortugas antes de entrar en brumación dejan de consumir alimentos por días o hasta semanas lo que implica que no habría aporte de biomoléculas orgánicas ni minerales como la Vitamina B12. En este estado existe un aporte menor de Oxígeno ocasionando la alteración en el VCM y en los GR lo que genera anemia macrocítica fisiológica. Se debe considerar que los animales muestreados debido al frío ingresaban y salían del estado de brumación/letargia lo que pudo ocasionar esta anemia macrocítica y que a largo plazo se pueden sumar un conjunto de otras patologías.

Tabla 2: GB y fórmula leucocitaria de las tortugas *Kinosternon leucostomum* en cautiverio (n=30)

Parámetro	Min	Max	Media	Mediana	CV	E.E	IC 95%	
							LI	LS
GB (Cel/μL)	14800	39800	26013,3	23600	25,2	1198	23.563	28.464
Het %	25	49	36,47	37	14,5	0,96	34,5	38,43
Het (Cel/μL)	5412	18228	9553,9	8847	32,4	564,8	8399	10709
Eos %	3	15	9,07	9	32,2	0,53	7,97	10,16
Eos (Cel/μL)	820	5580	2371,5	2199	44,1	191,1	1981	2762
Baso %	24	51	37	36	19,9	1,34	34,26	39,74
Baso (Cel/μL)	5476	16224	9523,1	8719	28,7	499	8503	10544
Mon %	4	14	8,83	9	34,9	0,56	7,68	9,99
Mon (cel/μL)	880	4368	2299,7	2316	43,5	182,6	1926	2673
Linf %	5	15	8,6	8,5	28,3	0,44	7,69	9,51
Linf (Cel/μL)	888	5970	2253,1	2267	42,5	174,6	1896	2610

En el conteo de GB, la media encontrada en esta investigación es superior a la descrita por Edwar J. Acero (6343,18 \pm 1830,98 $10^3/\mu$ L), y la reportada por el Zoo de Cali (13148 Cel/ μ L), esta diferencia y aparente aumento se explica al observar la fórmula leucocitaria, considerando la temperatura baja a la que están expuestas como causante principal. Pero se encuentra dentro del rango descritos en reptiles sanos ≤ 30.000 Cel/ μ L (Douglas R. Mader, & Stephen J. Divers, 2014).



Las medias del porcentaje de heterófilos y 95 % de intervalo de confianza del porcentaje de linfocitos que se obtuvieron en esta investigación son inferiores a las obtenidas por Edwar J. Acero (47.31 ± 13.35 % heterófilos 10,11-25,79 % linfocitos); y por el Zoo de Cali (69,02% heterófilos; 10-14% linfocitos); sin embargo, la media del porcentaje de heterófilos se encuentra dentro de lo descrito por Douglas R. Mader, & Stephen J. Divers, (2014) en los reptiles.

Al 95% de confianza el % de eosinófilos es mayor que el descrito por Edwar J Acero (3.13 ± 4.96 %) y están dentro de los parámetros descritos por A. Martínez-Silvestre *et al.* (2011) en reptiles (≤ 20 %), lo mismo ocurre con el porcentaje de basófilos que es superior a lo que obtuvo Edwar J Acero (23.75 ± 10.38 %) y el Zoo de Cali 95% IC (4-6 %) y se encuentran dentro del parámetro establecido en Chelonias (≤ 65 %) (Stephen J. Divers, & Scott J. Stahl, 2019). La media del porcentaje de monocitos también es superior al investigado por Edwar J Acero (4.22 ± 4.92 %) y el Zoo de Cali (1-2 %) además estos se encuentran cercanos al límite superior descrito en reptiles sanos 0-10 % (Stephen J. Divers, & Scott J. Stahl, 2019).

Al analizar cada porcentaje de leucocitos vemos que existe un posible aumento en los eosinófilos, basófilos y monocitos; y, un aparente descenso en los heterófilos y linfocitos. Al haber realizado la toma de muestra de animales aparentemente sanos se asume el clima como principal agente causal de la posible alteración leucocitaria puesto que coincide con el patrón leucocitario de hibernación/brumación. Los valores reportados son de utilidad para animales encontrados en áreas frías.

**Tabla 3: Trombocitos y proteína plasmática de las tortugas *Kinosternon leucostomum* en cautiverio (n=30)**

Parámetro	Min	Max	Media	Mediana	CV	E.E	IC 95%	
							LI	LS
Tromb #	30000	48000	39133,3	40000	13,8	985,8	37117	41150
Prot (g/L)	33	55	46,87	45	13,1	1,12	44,57	49,16

La media de los trombocitos coincide con la establecida para los reptiles 25-350 por cada 100 GB (Douglas R. Mader, & Stephen J. Divers, 2014); utilizando este cálculo nuestra media es de 150 trombocitos por cada 100 GB. Otra manera de determinar los trombocitos es de forma subjetiva según la cantidad de coágulos en el frotis (disminuido, normal o aumentado), los parámetros que obtuvimos están dentro de lo considerado como normal.

Los valores de proteínas al 95% de Intervalo de confianza coinciden con el rango descrito por (Douglas R. Mader, & Stephen J. Divers, 2014) para Chelonias (20-70 g/L); sin embargo, son inferiores a los encontrados por el Zoo de Cali (60-70 g/L), esto podría deberse a que se utilizaron dos técnicas diferentes para determinar estos valores, en la presente investigación se utilizó el refractómetro manual (proteínas plasmáticas) mientras que en el Zoo de Cali se realizó por espectrofotometría (proteína sérica); también debe considerarse factores externos (dieta, manejo, temperatura y áreas del terrario).

Tabla 4: Hto, GR, Hb y parámetros eritrocitarios de las tortugas *Chelydra acutirostris* en cautiverio (n=30)

Parámetro	Min	Max	Media	Mediana	CV	E.E	IC 95%	
							LI	LS
Hto (%)	15	45	26,73	25	26,54	1,3	24,08	29,38
GR (Cel/ μ L)	176400	624000	362960	366200	31,23	20698	320627	405293
Hb (g/dl)	5	15	8,94	8,33	26,24	0,43	8,06	9,81
VCM (fl)	321	2551	839,03	740	54,72	83,82	667,61	1010,46
HCM (pg)	107	850	279,73	247	54,69	27,93	222,61	336,86
CHCM (g/dl)	33	33,33	33,29	33,33	0,34	0,02	33,24	33,33



El LI y LS con un intervalo de confianza del 95% del hematocrito obtenido en la presente investigación es mayor a los descritos en la especie *Chelydra serpentina* (14-33 %) (Andrea C. Apalasca *et al*, 2019) en su investigación Health Assessment Of Free-Ranging Chelonians In An Urban Section Of The Bronx River, New York publicada en el Journal of Wildlife Diseases, y al porcentaje descrito para la tortuga *Macrochelys temminckii* (22,1-24,4 %), en la publicación Exotic Animal Laboratory Diagnosis Book, (J. Jill Heatley, & Karen Russell, 2020); y, es menor a los valores obtenidos en el Zoo de Cali (base de datos *Chelydra acutirostris* 2002-2018) con una media de 28,88%; esta diferencia podría deberse a factores externos como el clima y que las muestras en esta investigación fueron tomadas en un periodo de tiempo corto en relación a las del Zoo de Cali que son un compendio de muestras extraídas durante más de una década. Por otro lado, el valor mínimo y máximo, se encuentran dentro de los parámetros descritos en los reptiles 15-55 % (A. Martínez-silvestre, 2011). La media de la Hb descrita en esta investigación es similar a la indicada para Chelonias <10g/dl (Douglas R. Mader, & Stephen J. Divers, 2014), y reptiles 5,1-12 g/dl (Stephen J. Divers S. J, 2019) y 9,01 g/dl por el Zoo de Cali. De la misma manera el intervalo de confianza del 95% del CHCM se encuentra dentro del intervalo establecido por Stephen J. Divers S. J, (2019) realizado en reptiles (20-40 %) y son cercanos a los compartidos por el Zoo de Cali (29-33 g/dl).

El VCM se halla dentro del intervalo descrito para los reptiles (160-1200 fl); sin embargo, es superior al encontrado en el Zoo de Cali (216,51-440,51 fl) y la media es mayor a la descrita por Douglas R. Mader, & Stephen J. Divers, (2014) en las Chelonias (500 fl). El intervalo de confianza al 95% de la HCM es superior a la descrita por Stephen J. Divers S. J, (2019) en los reptiles (60.2–270.8 pg). Este aumento en los valores de VCM y HCM nos indica una aparente anemia macrocítica la cual podría tener una relación directa a la brumación/letargia por frío recurrente o continua en vista de las bajas temperaturas a las que están expuestas.

La media de los GR es menor al expuesto por el Zoo de Cali (814,500 Cel/ μ L) y menor al valor descrito en las Chelonias (500.000 Cel/ μ L); sin embargo, los valores mínimos y máximos son cercanos a los descritos por Çiçek, (2014) en las tortugas *Chelydra serpentina* (154.166-530.000 Cel/ μ L). Considerando los



parámetros incrementados de VCM y HCM; y la aparente disminución de los GR se puede indicar que existe una aparente anemia macrocítica, la cual podría deberse a las bajas temperaturas lo que induce al animal a entrar en estivación con futura letargia por frío o brumación, esto disminuye su metabolismo para hacer frente a las bajas temperaturas.

Tabla 5: GB y fórmula leucocitaria de las tortugas *Chelydra acutirostris* en cautiverio (n=30)

Parámetro	Min	Max	Media	Mediana	CV	E.E	IC 95%	
							LI	LS
GB (Cel/μL)	10000	44600	26067	27400	37,6	1789	22407	29726
Het %	18	58	31,67	29	27,37	1,58	28,43	34,9
Het (Cel/μL)	2754	14016	8152,2	8094	42,22	628	6867	9438
Eos %	2	38	13,93	12	60,96	1,55	10,76	17,1
Eos (Cel/μL)	864	10640	3458,87	3118	67,28	425	2590	4328
Baso %	5	50	26,1	26	48,26	2,3	21,4	30,8
Baso (Cel/μL)	1582	15228	6737,4	5872	62,16	765	5174	8301
Mon %	2	17	7,77	7	48,02	0,68	6,37	9,16
Mon (Cel/μL)	306	7582	2070,13	2034	70	265	1529	2611
Linf %	6	42	20,53	18	40,82	1,53	17,4	23,66
Linf (Cel/μL)	1296	15164	5648,07	4626	65,7	678	4262	7034

Al 95% de nivel de confianza, el límite superior de los GB se encuentra dentro de los parámetros descritos para reptiles ≤ 30.000 Cel/ μ L (Douglas R. Mader, & Stephen J. Divers, 2014); sin embargo, el intervalo de la presente investigación fue mayor al encontrado en las tortugas *Macrochelys temminckii* descritas por J. Jill Heatley, & Karen Russell (2020) $11,2-13,4 \times 10^3$ / μ L y lo compartido por el Zoo de Cali en las *Chelydra acutirostris* (7.197-11.318 Cel/ μ L). Las diferencias de los resultados obtenidos se pueden deber a que los estudios se realizaron en varias especies en el caso de la tortuga *Macrochelys temminckii* y al periodo de tiempo de la toma de muestras, sin embargo, no se descarta que el incremento de los leucocitos se deba a una respuesta fisiología debido a factores externos como la temperatura.

El porcentaje de heterófilos con un intervalo de confianza de 95 % descrito en esta investigación es inferior al reportado en las tortugas *Macrochelys temminckii* 37-43 % (J. Jill Heatley, & Karen Russell, 2020) y los datos no publicados



compartidos por el zoo de Cali en *Chelydra acutirostris* (64-74 %); sin embargo, es superior al encontrado en *Chelydra serpentina* 3-30 % (Andrea C. Apalasca. *et al*, 2019) Sin embargo, se encuentra dentro de los parámetros establecidos para los reptiles (0-40 %). Con relación al porcentaje de linfocitos los valores encontrados fueron menores a los descritos por Andrea C. Apalasca *et al*, (2019) 31-70 %, y los de la especie *Macrochelys temminckii* 20-25 % expuestos (J. Jill Heatley, & Karen Russell, 2020), sin embargo, fueron superiores a los determinados por el Zoo de Cali (14-20 %). Según Stephen J. Divers, & Scott J. Stahl, (2019) los linfocitos en los reptiles corresponden hasta un 80 % del total de leucocitos.

Los LI y LS en el intervalo de confianza al 95 % del porcentaje de eosinófilos son inferiores a los encontrados por J. Jill Heatley, & Karen Russell, (2020) en las tortugas *Macrochelys temminckii* (20.2-24.5 %) y superior al compartido por el Zoo de Cali (2-7 %); sin embargo, se encuentra dentro del parámetro descrito en las Chelonias por A. Martínez *et al* (2011) (≤ 20 %). Con respecto al porcentaje de basófilos, el reportado en esta investigación fue mayor al descrito por J. Jill Heatley, & Karen Russell, (2020) realizado en las tortugas *Macrochelys temminckii* (6.5-10.8 %) y al encontrado por el Zoo de Cali (12-19 %); sin embargo, se encuentran dentro de lo reportado en Chelonias ≤ 65 % (Stephen J. Divers S. J., 2019). En cuanto al porcentaje de monocitos el valor fue mayor al del Zoo de Cali 5-7 %; y, se encuentra dentro de lo publicado en reptiles sanos 0-10 % (Stephen J. Divers, & Scott J. Stahl, 2019). Las diferencias en los resultados de porcentajes de los distintos tipos de leucocitos encontrados en esta investigación con los reportados en varias publicaciones, podrían deberse a que los parámetros fueron determinados en distintas especies; sin embargo, tienen relación directa con el patrón de alteración leucocitaria secundario a las bajas temperaturas.

Al contrarrestar los resultados hematológicos que nos indican una posible anemia macrocítica con los GB que sugiere una aparente alteración leucocitaria por bajas temperaturas, se podría indicar que la temperatura ambiental al parecer ha ocasionado periodos de brumación/letargia recurrente; sin embargo, estos parámetros podrían ser los considerados como referenciales para estas especies en estas condiciones ambientales.

**Tabla 6: Trombocitos y proteína plasmática de las tortugas *Chelydra acutirostris* en cautiverio (n=30)**

Parámetro	Min	Max	Media	Mediana	CV	E.E	IC 95%	
							LI	LS
Tromb #	20000	68000	38867	39000	27,75	1969	34839	42894
Prot (g/L)	35	88	65,9	66,5	16,28	1,96	61,89	69,91

La media de los trombocitos concuerda con lo descrito para los reptiles 25-350 por cada 100 GB (Douglas R. Mader, & Stephen J. Divers 2014), utilizando este cálculo nuestra media es de 150 trombocitos por cada 100 GB. De la misma manera los LI y LS del Intervalo de confianza 95 % de las proteínas se encuentran dentro de lo establecido por el mismo autor para los reptiles (30-70 g/L) y las Chelonias (20-70g/L).

Los resultados obtenidos en base al objetivo 2 se observan en las tablas 7 a la 12.

Tabla 7: Análisis de normalidad de Shapiro Wilks de los parámetros hematológicos de las tortugas *Kinosternon leucostomum*

Variable	Media	D.E.	W	P (unilateral D)
Hto (%)	21,43	3,06	0,85	0
Prot (g/L)	46,87	6,14	0,88	0,01
Hb (g/dl)	7,2	0,89	0,85	0
VCM (fL)	563,67	200,18	0,8	0
HCM (pg)	187,87	66,62	0,8	0
CHCM (g/dl)	33	0	INF	1
GR (Cel/ μ L)	411800	102616,78	0,84	0
GB (Cel/ μ L)	26013,33	6563,42	0,92	0,12
% Heterófilo	36,47	5,27	0,98	0,91
# Heterófilo	9553,93	3093,43	0,92	0,09
% Eosinófilo	9,07	2,92	0,95	0,43
# Eosinófilo	2371,53	1046,78	0,93	0,2
% Basófilo	37	7,35	0,90	0,02
# Basófilo	9523,07	2733,04	0,91	0,07
% Monocito	8,83	3,09	0,90	0,02
# Monocito	2299,73	1000,37	0,92	0,1
% Linfocito	8,6	2,43	0,94	0,27
# Linfocito	2253,13	956,52	0,87	0
Tromb (Cel/ μ L)	39133,33	5399,45	0,92	0,08

p < alfa 0,05 se rechaza la hipótesis nula, comportamiento no normal, no paramétrico
p > alfa 0,05 no se rechaza hipótesis nula, comportamiento normal o paramétrico



Tabla 8: Análisis de normalidad de Shapiro Wilks de los parámetros hematológicos de las tortugas *Chelydra acutirostris*

Variable	Media	D.E.	W	P (unilateral D)
Hto (%)	26,73	7,1	0,89	0,01
Prot (g/L)	65,9	10,73	0,97	0,74
Hb (g/dl)	8,93	2,34	0,89	0,01
VCM (fI)	839,03	459,08	0,82	0,00
HCM (pg)	279,73	152,99	0,82	0,00
CHCM (g/dl)	33,29	0,11	0,4	0,00
GR (Cel/ μ L)	362960	113369	0,95	0,48
GB (Cel/ μ L)	26066,67	9800,4	0,93	0,16
% Heterófilo	31,67	8,67	0,88	0,01
# Heterófilo	8152,2	3442,18	0,91	0,05
% Eosinófilo	13,93	8,49	0,87	0,00
# Eosinófilo	3458,87	2327,17	0,87	0,00
% Basófilo	26,1	12,6	0,93	0,21
# Basófilo	6737,4	4187,84	0,89	0,01
% Monocito	7,77	3,73	0,93	0,19
# Monocito	2070,13	1449,19	0,85	0,00
% Linfocito	20,53	8,38	0,91	0,04
# Linfocito	5648,07	3710,85	0,88	0,01
Tromb (Cel/ μ L)	38866,67	10785,5	0,97	0,76

$p < \alpha 0,05$ se rechaza la hipótesis nula, comportamiento no normal, no paramétrico
 $p > \alpha 0,05$ no se rechaza hipótesis nula, comportamiento normal o paramétrico

Considerando la variación en la normalidad de comportamientos según la prueba de Shapiro Wilks, se realizó la prueba de Coeficiente de Correlación de Spearman.

Tabla 9: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos: GR, HTO, HB, parámetros eritrocitarios, trombocitos y proteínas totales de las tortugas *Kinosternon leucostomum* en cautiverio (n=30)

Kinosternon	Muy fuerte	Fuerte	Medio
variable 1	variable 2	Spearman	Pvalue
Hto%	Hb	0,98	0
Hto%	VCM	0,42	0,02
Hto%	HCM	0,42	0,02
VCM	GR	-0,69	0
HCM	GR	-0,69	0



Tabla 10: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos: GR, HTO, HB, parámetros eritrocitarios, trombocitos y proteínas totales de las tortugas *Chelydra acutirostris* en cautiverio (n=30)

Chelydra	Muy fuerte	Fuerte	Medio
Variable 1	Variable 2	Spearman	Pvalue
Hto%	Hb	1	0
Hto%	VCM	0,71	0
Hto%	HCM	0,71	0
Hb	VCM	0,71	0
Hb	HCM	0,71	0
VCM	GR	-0,82	0
HCM	GR	-0,82	0

La relación muy fuerte y directa del Hto con la Hb en ambas especies se debe a que el primero indica la cantidad de GR por volumen de sangre y el segundo es la proteína que se encuentra dentro de los GR, encargada de transportar el Oxígeno; por ende, el valor del hematocrito siempre indica de forma indirecta la cantidad de Hb; por lo que mediante la fórmula descrita por Mariela Forrellat-Barrios, (2010) se puede extraer el valor de la Hb a partir del Hto.

El Hto y la Hb tienen una correlación positiva fuerte con el VCM y la HCM debido a que todos miden parámetros de los glóbulos rojos, el VCM indica el tamaño del eritrocito y el HCM la cantidad de hemoglobina presente en un GR.

Existe una relación inversa fuerte entre el total de GR, el VCM y la HCM, siempre que el VCM aumenta se ve disminuido el total de glóbulos rojos y viceversa; esta alteración en conjunto con el aumento de la HCM nos indica la existencia de distintas patologías, principalmente anemia por déficit de Vitamina B12 que produce GR megaloblásticos y explicaría el VCM aumentado.



Tabla 11: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos: trombocitos, GB y fórmula leucocitaria de las tortugas *Kinosternon leucostomum* en cautiverio (n=30)

Kinosternon	Muy fuerte	Fuerte	Medio
variable 1	variable 2	Spearman	Pvalue
Het %	Bas %	-0,76	0
Bas %	Mon %	-0,46	0,01

Tabla 12: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos: trombocitos, GB y fórmula leucocitaria de las tortugas *Chelydra acutirostris* en cautiverio (n=30)

Chelydra	Muy fuerte	Fuerte	Medio
variable 1	variable 2	Spearman	Pvalue
Het %	Bas %	-0,48	0,01
Bas %	Mon %	-0,55	0

Existe una correlación fuerte y negativa entre el porcentaje de heterófilos y basófilos, esto se explica porque al estar expuestas a bajas temperaturas se genera un descenso de los heterófilos y un aumento de los basófilos fisiológicos (Douglas R. Mader, 2014; A. Martínez-Silvestre, 2011; Novoveský, 2019); además, al realizar el conteo para la fórmula leucocitaria siempre que un valor de un tipo de leucocito se eleva, los otros disminuyen para compensar y obtener el 100%.

El porcentaje de basófilos con el porcentaje de monocitos presentan una relación media inversa, aunque fisiológicamente ambos aumentan en invierno/brumación y en la determinación de los parámetros hematológicos ambos se encontraron elevados o cerca del límite superior, se puede explicar que su relación es inversa ya que los diferentes tipos de leucocitos deben aumentar o disminuir para cumplir con el 100% del conteo en la fórmula leucocitaria.



Los resultados obtenidos en base al objetivo 3 se observan en la tabla 13.

Tabla 13: Comparación entre los parámetros hematológicos obtenidos en *Chelydra acutirostris* (c.a.) Y *Kinosternon leucostomum* (k.l.).

Mann-withney Clasificación por Especie												
Variable	1	2	n1	n2	Media 1	Media 2	DE 1	DE 2	Mediana 1	Mediana 2	W	P (dos colas)
Hto (%)	C.a.	k.l.	30	30	26,73	21,43	7,1	3,06	25	20	1143	0,00
Prot (g/l)	C.a.	k.l.	30	30	65,9	46,87	10,73	6,14	66,5	45	1318	0,00
Hb (g/dl)	C.a.	k.l.	30	30	8,87	7,2	2,33	0,89	8	7	1127,5	0,00
VCM (fI)	C.a.	k.l.	30	30	839,03	563,67	459,08	200,18	740	511,5	1118,5	0,00
HCM (pg)	C.a.	k.l.	30	30	279,73	187,87	152,99	66,62	247	170,5	1118,5	0,00
CHCM (g/dl)	C.a.	k.l.	30	30	33	33	0	0	33	33	NF	NF
GR (Cel/ul)	C.a.	k.l.	30	30	362960	411800	113369	102617	366200	419000	791,5	0,07
GB (Cel/ul)	C.a.	k.l.	30	30	26066,7	26013,3	9800,4	6563,42	27400	23600	917,5	0,97
% Heterófilo	C.a.	k.l.	30	30	31,67	36,47	8,67	5,27	29	37	694	0,00
# Heterófilo	C.a.	k.l.	30	30	8152,2	9553,93	3442,18	3093,43	8094	8847	816	0,14
% Eosinófilo	C.a.	k.l.	30	30	13,93	9,07	8,49	2,92	12	9	1103,5	0,01
# Eosinófilo	C.a.	k.l.	30	30	3458,87	2371,53	2327,17	1046,78	3118	2199	1038	0,07
% Basófilo	C.a.	k.l.	30	30	26,1	37	12,6	7,35	26	36	687	0,00
# Basófilo	C.a.	k.l.	30	30	6737,4	9523,07	4187,84	2733,04	5872	8719	719	0,00
% Monocito	C.a.	k.l.	30	30	7,77	8,83	3,73	3,09	7	9	825	0,18
# Monocito	C.a.	k.l.	30	30	2070,13	2299,73	1449,19	1000,37	2034	2316	823	0,17
% Linfocito	C.a.	k.l.	30	30	20,53	8,6	8,38	2,43	18	8,5	1329	0,00
# Linfocito	C.a.	k.l.	30	30	5648,07	2253,13	3710,85	956,52	4626	2267	1218,5	0,00
Tromb (Cel/ul)	C.a.	k.l.	30	30	38866,7	39133,3	10785,5	5399,45	39000	40000	884,5	0,65

Según los resultados obtenidos podemos afirmar que existe diferencia estadísticamente significativa entre ambas especies en los parámetros hematológicos: Hto, Hb, VCM, HCM, proteínas, porcentaje de heterófilos y eosinófilos; porcentaje y número de basófilo y linfocitos. Esto demuestra que al ser dos especies pertenecientes a zonas pantanosas semi-acuáticas y diferentes en comportamiento y tamaño, existen diferencias y semejanzas en los parámetros hematológicos, corroborando así la importancia de determinar en todas y cada una de las especies animales estos valores que nos permiten confirmar su estado de salud.



5. CONCLUSIONES

Se determinaron los Parámetros hematológicos para las especies *Kinosternon leucostomum* y *Chelydra acutirostris* en cautiverio, varios de ellos coincidieron con los descritos para reptiles y Chelonias; sin embargo, algunos parámetros difieren con publicaciones realizadas en otras especies de tortugas y otras condiciones ambientales.

Se presentan correlaciones fuertes y directas entre Hto y Hb; y, fuertes y medias entre los otros parámetros eritrocitarios en ambas especies.

Existe una relación inversa fuerte y media entre el conteo de glóbulos blancos con los porcentajes según la fórmula leucocitaria en ambas especies.

Se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ambas especies en los parámetros hematológicos: Hto, Hb, VCM, HCM, proteínas, porcentaje de heterófilos y eosinófilos; porcentaje y número de basófilos y linfocitos; demostrando la importancia de tener valores referenciales para cada especie y considerando la influencia de las condiciones ambientales para su determinación.



6. RECOMENDACIONES

Al no existir mayores datos de las especies, los datos reportados sirven como base para futuras investigaciones abriendo campo para médicos veterinarios y biólogos interesados.

Realizar nuevas investigaciones de hematología en *Chelydra acutirostris* y *Kinosternon leucostomum* considerando otras variables como alimentación, la época del año, temperatura de exposición y brumaciones controladas y dirigidas.



7. BIBLIOGRAFÍA

- U.S. Department of Health and Human Services & National Institutes of Health. (04 del 08 de 2020). *MedlinePlus Información de salud para usted*. Obtenido de Biblioteca Nacional de Medicina de los EE. UU.: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003648.htm>
- A. Martínez-Silvestre, S. L. (2011). Hematología y citología sanguínea en reptiles. *A.V.E.P.A.*, 131-141.
- Adriana Caterine Regalado Tabares, Á. B.-B.-I.-G. (2012). Familia Chelydrae-Chelydra acutirostris. En M. A.-B.-M. Vivian P. Páez, *biología y conservación de las tortugas continentales de colombia* (págs. 275-278). Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. ISBN: 9588343771, 9789588343778
- Alan Giraldo, M. F.-R. (2012). FAMILIA KINOSTERNIDAE-*Kinosternon leucostomum*. En M. A.-B.-M. Vivian P. Páez, *biología y conservación de las tortugas continentales de colombia* (págs. 332-339). Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- Alarcon, I. (14 de 08 de 2018). 61 % de especies de tortugas se encuentra amenazado. *El Comercio*. Obtenido de <https://www.elcomercio.com/tendencias/especies-tortugas-amenazada-biodiversidad-planeta.html>. Fecha de consulta 20/06/2021
- Alfredo José Montilla, D. P.-T. (2014). Estudio hematológico de tortugas marinas *Eretmochelys imbricata* y *Caretta caretta* presentes en la alta guajira, golfo de Venezuela. *Revista científica de veterinaria*, 363-371.
- Avanzi, M. (2016). *Las tortugas terrestres*. USA: Parkstone International. ISBN: 1785259784, 9781785259784
- Bassert, T. C. (2016). *Clinical Anatomy and Physiology for Veterinary Technicians*. USA: Elsevier. ISBN: 978-0-323-22793-3
- Bob Doneley, D. M. (2018). *Reptile Medicine and Surgery in Clinical Practice*. New York: John Wiley & Sons.
- Bonilla M.A., L. N. (2012). *Tortugas Terrestres y de agua dulce de Colombia y manejo de los decomisos*. (U. N. Colombia, Ed.) Bogotá: Colombia. Ministerio del Ambiente y Desarrollo Sostenible.
- Calendaria Juste de Santa-Ana, y. E. (2015). *Fundamentos de análisis clínicos en animales de compañía*. España: Multimédica Ediciones Veterinarias. ISBN: 978-84-96344-16-7
- Campbell, T. W. (2014). Clinical pathology of reptiles. En D. R. Divers, *Current therapy in reptile medicine and surgery* (págs. 70-92). USA: Saunders, & Elsevier Inc. ISBN: 978-1-4557-0893-2
- Çiçek, K. (2014). Haematology of amphibians and reptiles: a review. *North-western journal of zoology*, 190-209.
- Craig B. Stanford, e. a. (22 de Junio de 2020). Turtles and Tortoises Are in Trouble. *Current Biology CellPress*, 21-35. doi: 10.1016/j.cub.2020.04.088



- Don Moll, E. O. (2004). *The Ecology, Exploitation and Conservation of River Turtles*. USA: Oxford University Press. ISBN: 0198026250, 9780198026259
- Douglas R. Mader, & S. (2014). *Current therapy in reptile medicine and surgery*. Canada: Elsevier Saunders. ISBN 978-1-4557-0893-2
- Ecología El Universo. (05 de 03 de 2017). Las tortugas, monos y loros están entre los más traficados en Ecuador. *El Universo*. Obtenido de <https://www.eluniverso.com/vida-estilo/2017/03/05/nota/6072538/tortugas-monos-loros-estan-mas-traficados-pais>. Fecha de consulta 10/04/2021.
- ELLIS, T. W. (2013). *Avian and exotic animal hematology and cytology*. Iowa: Blackwell.
- Feiyan Zhang, H. G. (2011). A Review of Chelonian Hematology. *Asian Herpetological Research*, 12-20.
- Feldman, C. A. (2004). *Laboratory Urinalysis and Hematology for the Small Animal Practitioner*. USA: Teton NewMedia.
- Franklin, C. J. (2007). *Turtles An Extraordinary Natural History 245 Million Year in the Making*. USA: Voyageur Press. ISBN:161060556X, 9781610605564
- Fuentes, E. J. (2003). *Los vertebrados fósiles en la historia de la vida. Excavación, estudio y patrimonio* (Vols. Volumen: 57 de Aquilafuente Series,). España: Universidad de Salamanca. ISBN: 8478006702, 9788478006700
- Giulia Andreani, E. C. (2014). Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's tortoises (*Testudo hermanni* ssp.). *Veterinary Clinical Pathology*, 1-11.
- Giulia Andreani, E. C. (2014). Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's Tortoises (*Testudo hermanni* ssp.). *Veterinary Clinical Pathology*, 573-583.
- GOOGLE. (25 de 08 de 2020). *GOOGLE MAPS*. Obtenido de Amaru Zoológico Bioparque: <https://www.google.com/maps/place/Amaru+Zool%C3%B3gico+Bioparque/@-2.8933504,-78.9748335,3131m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x0:0xeaba4154b64349cc!8m2!3d-2.8940094!4d-78.9568305>
- IUCN. (2020). *the IUCN Red List of Threatened Species*, Version 2020-1. Obtenido de <https://www.iucnredlist.org/search?query=turtle&searchType=species>
- J. Jill Heatley, & K. (2020). *Exotic animal laboratory diagnosis*. New York: John Wiley & Sons.
- J.C. Fontanilla, C. G. (2000). *Los reptiles Biología, Comportamiento y patología*. España: Ediciones Mundi-Prensa.
- Jeanette Wyneken, M. H. (2007). *Biology of Turtles: From Structures to Strategies of Life*. USA: CRC Press. ISBN: 1420004972, 9781420004977
- John Chitty, A. R. (2013). *Essentials of Tortoise Medicine and Surgery*. UK: John Wiley & Sons. ISBN: 1118583981, 9781118583982
- John Legler, R. C. (2013). *The Turtles of Mexico: Land and Freshwater Forms*. California: Univ of California Press. ISBN:0520956893, 9780520956896



- Justin F. Rosenberg, J. F. (2018). Reference intervals for erythrocyte sedimentation rate, lactate, fibrinogen, hematology, and plasma protein electrophoresis in clinically healthy captive gopher tortoises (*Gopherus polyphemus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 520-527.
- Lehmacher, W. (2016 de 08 de 2016). *World Economic Forum*. Obtenido de weforum.org: <https://www.weforum.org/agenda/2016/09/fighting-illegal-wildlife-and-forest-trade/>
- Lema, T. d. (2002). *Os répteis do Rio Grande do Sul: atuais e fósseis, biogeografia, ofidismo*. Brasil: EDIPUCRS. ISBN: 8574302678, 9788574302676
- Lewbart GA, G. J.-P. (2018). Biochemistry and hematology parameters of the San Cristóbal Galápagos tortoise (*Chelonoidis chathamensis*). *Conservation Physiology*, 1-8.
- Mariela Forrellat-Barrios, P. H.-R.-D.-R. (2010). ¿Se cumple siempre la relación hemoglobina-hematocrito? *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia.*, 359-361.
- Marta Avanzi, M. M. (2019). *El gran libro de las tortugas*. USA: Parkstone International. ISBN: 1644617099, 9781644617090
- Martha Lucía Calderon Espinosa, G. F. (2019). *Anfibios y reptiles del municipio de San José del Guaviare (Guaviare, Colombia): Guía de Campo del Instituto de Ciencias Naturales n.o 24*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Millefanti, M. (2016). *Las tortugas acuáticas, la morfología, las especies, la cría y los cuidados*. USA: Parkstone International. ISBN: 1785259776, 9781785259777
- Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2017). *Guía para la identificación de especies de fauna silvestres sujetas al tráfico y comercio ilegal de carne de monte-Recomendaciones para su manejo emergente*. Quito: Siroco Studio. ISBN: 978-9942-22-143-8
- Muñoz-Pérez JP, L. G.-R. (2017). Blood gases, biochemistry and haematology of Galápagos hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*). *Conservation Physiology*, 1-9.
- Nantarika Chansue, A. S. (2011). Hematology and clinical chemistry of adult yellow-headed temple turtles (*Hieremys annandalii*) in Thailand. *Veterinary Clinical Pathology*, 174-184.
- Nicole I. Stacy, A. R. (2011). Diagnostic Hematology of Reptiles. *Clinics in laboratory medicine*, 3(1), 87-108. doi: 10.1016/j.cll.2010.10.006
- Nicole I. Stacy, A. R. (2011). Diagnostic Hematology of Reptiles. *Veterinary Laboratory Medicine*, 87-108.
- U.S. Department of Health and Human Services & National Institutes of Health. (04 de 08 de 2020). *MedlinePlus Información de salud para usted*. Obtenido de Biblioteca Nacional de Medicina de los EE. UU.: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003648.htm>
- A. Martínez-Silvestre, S. L. (2011). Hematología y citología sanguínea en reptiles. *A.V.E.P.A.*, 131-141.
- Adriana Caterine Regalado Tabares, Á. B.-B.-I.-G. (2012). Familia Chelydrae-Chelydra acutirostris. En M. A.-B.-M. Vivian P. Páez, *BIOLOGÍA Y CONSERVACIÓN DE LAS TORTUGAS CONTINENTALES DE COLOMBIA* (págs. 275-278). Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. doi:ISBN: 9588343771, 9789588343778



- Alan Giraldo, M. F.-R. (2012). FAMILIA KINOSTERNIDAE-Kinosternon leucostomum. En M. A.-B.-M. Vivian P. Páez, *BIOLOGÍA Y CONSERVACIÓN DE LAS TORTUGAS CONTINENTALES DE COLOMBIA* (págs. 332-339). Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- Alarcon, I. (14 de 08 de 2018). 61 % de especies de tortugas se encuentra amenazado. *El Comercio*. Obtenido de <https://www.elcomercio.com/tendencias/especies-tortugas-amenazada-biodiversidad-planeta.html>
- Alfredo José Montilla, D. P.-T. (2014). ESTUDIO HEMATOLÓGICO DE TORTUGAS MARINAS *Eretmochelys imbricata* Y *Caretta caretta* PRESENTES EN LA ALTA GUAJIRA, GOLFO DE VENEZUELA. *Revista científica de veterinaria*, 363-371.
- Avanzi, M. (2016). *Las tortugas terrestres*. USA: Parkstone International. doi:ISBN: 1785259784, 9781785259784
- Bassert, T. C. (2016). *Clinical Anatomy and Physiology for Veterinary Technicians*. USA: Elsevier. doi:ISBN: 978-0-323-22793-3
- Bob Doneley, D. M. (2018). *Reptile Medicine and Surgery in Clinical Practice*. New York: John Wiley & Sons.
- Bonilla M.A., L. N. (2012). *Tortugas Terrestres y de agua dulce de Colombia y manejo de los decomisos*. (U. N. Colombia, Ed.) Bogota: Colombia. Ministerio del Ambiente y Desarrollo Sostenible.
- Calendaria Juste de Santa-Ana, y. E. (2015). *Fundamentos de analisis clinicos en animales de compañía*. España: Multimédica Ediciones Veterinarias. doi:ISBN: 978-84-96344-16-7
- Campbell, T. W. (2014). CLINICAL PATHOLOGY OF REPTILES. En D. R. Divers, *Current therapy in reptile medicine and surgery* (págs. 70-92). USA: Saunders, & Elsevier Inc. doi:ISBN: 978-1-4557-0893-2
- Çiçek, K. (2014). Haematology of amphibians and reptiles: a review. *NORTH-WESTERN JOURNAL OF ZOOLOGY*, 190-209.
- Craig B. Stanford, e. a. (22 de Junio de 2020). Turtles and Tortoises Are in Trouble. *Current Biology CellPress*, 21-35. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.04.088>
- Don Moll, E. O. (2004). *The Ecology, Exploitation and Conservation of River Turtles*. USA: Oxford University Press. doi:ISBN: 0198026250, 9780198026259
- Douglas R. Mader, & S. (2014). *Current therapy in reptile medicine and surgery*. Canada: Elsevier Saunders. doi:ISBN 978-1-4557-0893-2
- Ecologia El Universo. (05 de 03 de 2017). Las tortugas, monos y loros están entre los más traficados en Ecuador. *El Universo*. Obtenido de <https://www.eluniverso.com/vida-estilo/2017/03/05/nota/6072538/tortugas-monos-loros-estan-mas-traficados-pais>
- ELLIS, T. W. (2013). *Avian and exotic animal hematology and cytology*. Iowa: Blackwell.
- Feiyan ZHANG, H. G. (2011). A Review of Chelonian Hematology. *Asian Herpetological Research*, 12-20.
- Feldman, C. A. (2004). *Laboratory Urinalysis and Hematology for the Small Animal Practitioner*. USA: Teton NewMedia.



- Franklin, C. J. (2007). *Turtles An Extraordinary Natural History 245 Million Year in the Making*. USA: Voyageur Press. doi:ISBN:161060556X, 9781610605564
- Fuentes, E. J. (2003). *Los vertebrados fósiles en la historia de la vida. Excavación, estudio y patrimonio* (Vols. Volumen: 57 de Aquilafuente Series,). España: Universidad de Salamanca. doi:ISBN: 8478006702, 9788478006700
- Giulia Andreani, E. C. (2014). Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's tortoises (*Testudo hermanni* ssp.). *Veterinary Clinical Pathology*, 1-11.
- Giulia Andreani, E. C. (2014). Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's tortoises (*Testudo hermanni* ssp.). *Veterinary Clinical Pathology*, 573-583.
- GOOGLE. (25 de 08 de 2020). *GOOGLE MAPS*. Obtenido de Amaru Zoológico Bioparque: <https://www.google.com/maps/place/Amaru+Zool%C3%B3gico+Bioparque/@-2.8933504,-78.9748335,3131m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x0:0xeaba4154b64349cc!8m2!3d-2.8940094!4d-78.9568305>
- IUCN. (2020). *the IUCN Red List of Treatedened Species*, Version 2020-1. Obtenido de <https://www.iucnredlist.org/search?query=turtle&searchType=species>
- J. Jill Heatley, & K. (2020). *Exotic animal laboratory diagnosis*. New York: John Wiley & Sons.
- J.C. Fontanilla, C. G. (2000). *LOS REPTILES Biología, Comportamiento y patología*. España: Ediciones Mundi-Prensa.
- Jeanette Wyneken, M. H. (2007). *Biology of Turtles: From Structures to Strategies of Life*. USA: CRC Press. doi:ISBN: 1420004972, 9781420004977
- John Chitty, A. R. (2013). *Essentials of Tortoise Medicine and Surgery*. UK: John Wiley & Sons. doi:ISBN: 1118583981, 9781118583982
- John Legler, R. C. (2013). *The Turtles of Mexico: Land and Freshwater Forms*. California: Univ of California Press. doi:ISBN:0520956893, 9780520956896
- Justin F. Rosenberg, J. F. (2018). REFERENCE INTERVALS FOR ERYTHROCYTE SEDIMENTATION RATE, LACTATE, FIBRINOGEN, HEMATOLOGY, AND PLASMA PROTEIN ELECTROPHORESIS IN CLINICALLY HEALTHY CAPTIVE GOPHER TORTOISES (*GOPHERUS POLYPHEMUS*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 520-527.
- Lehmacher, W. (2016 de 08 de 2016). *World Economic Forum*. Obtenido de [weforum.org: https://www.weforum.org/agenda/2016/09/fighting-illegal-wildlife-and-forest-trade/](https://www.weforum.org/agenda/2016/09/fighting-illegal-wildlife-and-forest-trade/)
- Lema, T. d. (2002). *Os répteis do Rio Grande do Sul: atuais e fósseis, biogeografia, ofidismo*. Brasil: EDIPUCRS. doi:ISBN: 8574302678, 9788574302676
- Lewbart GA, G. J.-P. (2018). Biochemistry and hematology parameters of the San Cristóbal Galápagos tortoise (*Chelonoidis chathamensis*). *Conservation Physiology*, 1-8.
- Mariela Forrellat-Barrios, P. H.-R.-D.-R. (2010). ¿Se cumple siempre la relación hemoglobina-hematócrito? *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia.*, 359-361.



- Marta Avanzi, M. M. (2019). *El gran libro de las tortugas*. USA: Parkstone International. doi:ISBN: 1644617099, 9781644617090
- Martha Lucía Calderon Espinosa, G. F. (2019). *Anfibios y reptiles del municipio de San José del Guaviare (Guaviare, Colombia): Guía de Campo del Instituto de Ciencias Naturales n.o 24*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Millefanti, M. (2016). *Las tortugas acuáticas la morfología, las especies, la cria y los cuidados*. USA: Parkstone International. doi:ISBN: 1785259776, 9781785259777
- Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2017). *Guía para la identificación de especies de fauna silvestres sujetas al tráfico y comercio ilegal de carne de monte-Recomendaciones para su manejo emergente*. Quito: Siroco Studio. doi:ISBN: 978-9942-22-143-8
- Muñoz-Pérez JP, L. G.-R. (2017). Blood gases, biochemistry and haematology of Galápagos hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*). *Conservation Physiology*, 1-9.
- Nantarika Chansue, A. S. (2011). Hematology and clinical chemistry of adult yellow-headed temple turtles (*Hieremys annandalii*) in Thailand. *Veterinary Clinical Pathology*, 174-184.
- Nicole I. Stacy, A. R. (2011). Diagnostic Hematology of Reptiles. *Clinics in laboratory medicine*, 3(1), 87-108. doi:doi:10.1016/j.cll.2010.10.006
- Nicole I. Stacy, A. R. (2011). Diagnostic Hematology of Reptiles. *Veterinary Laboratory Medicine*, 87-108.
- Northland College. (27 de 04 de 2015). *Northland College Nes*. Obtenido de <https://www.northland.edu/news/turtles-temperature-and-sex/>
- Novoveský, E. &. (2019). OBSERVATION OF SEASONAL CHANGES OF SELECTED HEMATOLOGICAL . *FOLIA VETERINARIA*, 46—53.
- O'Malley, B. (2007). *Anatomía y fisiología clínica de animales exóticos, Estructura y función de mamíferos, aves, reptiles y anfibios*. España: Servet, Diseño y Comunicación, S.L. doi:ISBN: 978-84-935971-1-5
- Perpiñán, D. (2008). HEMATOLOGY OF THE PASCAGOULA MAP TURTLE (*GRAPTEMYS GIBBONSI*) AND THE SOUTHEAST ASIAN BOX TURTLE (*CUORA AMBOINENSIS*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 460—463.
- Peter M. DiGeronimo, H. B. (2018). COMPARISON OF ALLIGATOR SNAPPING TURTLE (*MACROCHELYS TEMMINCKII*) PLASMA BIOCHEMICAL PROFILES FROM TWO CLINICAL ANALYZERS. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* , 925-930.
- Pu-Yu Yang, P.-H. Y.-H.-H. (2014). SEASONAL HEMATOLOGY AND PLASMA BIOCHEMISTRY REFERENCE RANGE VALUES OF THE YELLOW-MARGINATED BOX TURTLE (*CUORA FLAVOMARGINATA*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 278—286.
- Rodney Rhoades, D. R. (2009). *Medical Physiology: Principles for Clinical Medicine*. USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- S. Mitchell Lewis, I. B. (2007). *Dacie and Lewis. Hematología Practica*. España: Elsevier España, S.A. doi:ISBN 8480869208, 9788480869201
- Silva, I. (2019). *A Monograph on Clinical Hematology and Veterinary Diagnostic Techniques*. Sri Lanka. Recuperado el 2020, de



https://www.researchgate.net/publication/333294119_A_Monograph_on_Clinical_Hematology_and_Veterinary_Diagnostic_Techniques

- Silvestre, A. M. (2006). Hematología y bioquímica en reptiles. *EN PORTADA/ Parámetros Sanguíneos*, 32-35.
- Sobotta, U. W. (2008). *Histología*. Alemania: Ed. Médica Panamericana. doi:ISBN 8498351782, 9788498351781
- Stephen J. Divers, D. R. (2005). *Reptile Medicine and Surgery - E-Book*. USA: Elsevier Health Sciences. doi:ISBN: 141606477X, 9781416064770
- Stephen J. Divers, S. J. (2019). *Mader's Reptile And Amphibian Medicine And Surgery*. China: Elsevier Inc.
- Stuart McArthur, R. W. (2004). *Medicine and surgery of tortoises and turtles*. UK: Blackwell Publishing. doi:ISBN 1-4051-0889-4
- Torres-Carvajal, O. P.-O.-V. (02 de 02 de 2020). *Reptiles del Ecuador*. Obtenido de Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador: <https://bioweb.bio/faunaweb/reptiliaweb/>
- Vickie Joseph, D. D. (2015). Reptile Clinical Pathology. *Building Exotics Excellence: One City, One Conference* (págs. 155-162). USA: ExoticsCon. Obtenido de https://cdn.ymaws.com/members.arav.org/resource/resmgr/Files/Proceedings_2015/Pre_Conference/121.pdf
- William J. Reagan, A. R. (2008). *Veterinary hematology: atlas of common domestic and non-domestic species*. USA: Wiley-Blackwell.
- Williams, S. J. (2012). Temporal Variance in Hematologic and Plasma Biochemical Reference Intervals for Free-Ranging Eastern Box Turtles (*Terrapene carolina carolina*). *Journal of Wildlife Disease*, 799-802.
- Young, P. (2004). *Tortoise*. China: Reaktion Books. doi:ISBN: 1861895046, 9781861895042



8. ANEXOS

Anexo 1: Parámetros hematológicos de las tortugas taparrabo (*Kinosternon leucostomum*) en cautiverio.

Parámetros hematológicos de las tortugas <i>Kinosternon leucostomum</i> en cautiverio a 2500 m.s.n.m. (n=30)											
Variable	Min	Max	Media	Mediana	CV	D.E.	E.E	Q1	Q3	IC 95%	
										LI	LS
Hto (%)	15	27	21,43	20	14,27	3,06	0,56	20	25	20,29	22,58
Prot (g/l)	33	55	46,87	45	13,1	6,14	1,12	45	50	44,57	49,16
Hb (g/dL)	5	9	7,2	7	12,32	0,89	0,16	7	8	6,87	7,53
VCM (fI)	362	1048	563,67	511,5	35,51	200,18	36,55	410	601	488,92	638,41
HCM (pg)	121	349	187,87	170,5	35,46	66,62	12,16	137	200	162,99	212,74
CHCM (g/dl)	33	33	33	33	0	0	0	33	33	33	33
GR (Cel/ul)	190.800	534.000	411.800	419.000	24,92	102.616,78	18.735,18	363.600	491.600	373.482,27	450.117,73
GB (Cel/ul)	14800	39800	26013,33	23600	25,23	6563,42	1198,31	22000	31.200	23.562,51	28.464,15
% Heterófilo	25	49	36,47	37	14,45	5,27	0,96	33	40	34,5	38,43
# Heterófilo	5412	18228	9553,93	8847	32,38	3093,43	564,78	7018	12172	8398,83	10709,04
% Eosinófilo	3	15	9,07	9	32,25	2,92	0,53	7	11	7,97	10,16
# Eosinófilo	820	5580	2371,53	2199	44,14	1046,78	191,12	1624	2786	1980,66	2762,41
% Basófilo	24	51	37	36	19,86	7,35	1,34	32	39	34,26	39,74
# Basófilo	5476	16224	9523,07	8719	28,7	2733,04	498,98	7178	11726	8502,53	10543,6
% Monocito	4	14	8,83	9	34,94	3,09	0,56	6	11	7,68	9,99
# Monocito	880	4368	2299,73	2316	43,5	1000,37	182,64	1390	3024	1926,19	2673,28
% Linfocito	5	15	8,6	8,5	28,25	2,43	0,44	7	10	7,69	9,51
# Linfocito	888	5970	2253,13	2267	42,45	956,52	174,64	1694	2664	1895,96	2610,31
Tromb (Cel/ul)	30000	48000	39133,33	40000	13,8	5399,45	985,8	34000	42000	37117,15	41149,52

Min (mínimo), max (máximo), media, mediana, CV(coeficiente de Variación), D.E. (desviación estándar), E.E. (Error estándar), Q1 y Q3 (cuartiles 1 y 3), LI (límite inferior con intervalo de confianza del 95%), LS (Límite superior con intervalo de confianza al 95%)



Anexo 2: Parámetros hematológicos de las tortugas mordedoras (*Chelydra acutirostris*) en cautiverio

Parámetros hematológicos de las tortugas <i>Chelydra acutirostris</i> en cautiverio a 2500 m.s.n.m. (n=30)											
Variable	Min	Max	Media	Mediana	CV	D.E.	E.E	Q1	Q3	IC 95%	
										LI	LS
Hto (%)	15	45	26,73	25	26,54	7,1	1,3	22	30	24,08	29,38
Prot (g/l)	35	88	65,9	66,5	16,28	10,73	1,96	59	70	61,89	69,91
Hb (g/dL)	5	15	8,94	8,33	26,1	2,33	0,43	7,33	10	8,06	9,81
VCM (fI)	321	2551	839,03	740	54,72	459,08	83,82	546	918	667,61	1010,46
HCM (pg)	107	850	279,73	247	54,69	152,99	27,93	182	306	222,61	336,86
CHCM (g/dl)	33	33,33	33,29	33,33	0,34	0,11	0,02	33,33	33,33	33,24	33,33
GR (Cel/ul)	176400	624000	362960	366200	31,23	113368,66	20698,19	291600	432400	320627,46	405292,54
GB (Cel/ul)	10000	44600	26066,67	27400	37,6	9800,4	1789,3	16000	32600	22407,14	29726,19
% Heterófilo	18	58	31,67	29	27,37	8,67	1,58	27	36	28,43	34,9
# Heterófilo	2754	14016	8152,2	8094	42,22	3442,18	628,45	5832	10304	6866,87	9437,53
% Eosinófilo	2	38	13,93	12	60,96	8,49	1,55	10	17	10,76	17,1
# Eosinófilo	864	10640	3458,87	3118	67,28	2327,17	424,88	1696	4416	2589,89	4327,85
% Basófilo	5	50	26,1	26	48,26	12,6	2,3	16	35	21,4	30,8
# Basófilo	1582	15228	6737,4	5872	62,16	4187,84	764,59	2960	9520	5173,63	8301,17
% Monocito	2	17	7,77	7	48,02	3,73	0,68	5	10	6,37	9,16
# Monocito	306	7582	2070,13	2034	70	1449,19	264,58	1064	2544	1529	2611,27
% Linfocito	6	42	20,53	18	40,82	8,38	1,53	16	24	17,4	23,66
# Linfocito	1296	15164	5648,07	4626	65,7	3710,85	677,5	2888	8280	4262,41	7033,72
Tromb (Cel/ul)	20000	68000	38866,67	39000	27,75	10785,47	1969,15	30000	46000	34839,31	42894,03

Min (mínimo), max (máximo), media, mediana, CV(coeficiente de Variación), D.E. (desviación estándar), E.E. (Error estándar), Q1 y Q3 (cuartiles 1 y 3), LI (límite inferior con intervalo de confianza del 95%), LS (Límite superior con intervalo de confianza al 95%)



Anexo 3: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos Hto, Hb, VCM, HCM, CHCM, proteínas, y trombocitos de las *Kinosternon leucostomum* en cautiverio.

Kinosternon	Muy fuerte	Fuerte	Medio
Variable 1	Variable 2	Spearman	Pvalue
Hto%	Prot	-0,15	0,43
Hto%	Hb	0,98	0
Hto%	VCM	0,42	0,02
Hto%	HCM	0,42	0,02
Hto%	CHCM	0	1
Hto%	GR	0,26	0,17
Hto%	Tromb	0,18	0,34
Prot	Hb	-0,17	0,38
Prot	VCM	-0,49	0,01
Prot	HCM	-0,49	0,01
Prot	CHCM	0	1
Prot	GR	0,29	0,12
Prot	Tromb	0,03	0,88
Hb	VCM	0,39	0,03
Hb	HCM	0,39	0,03
Hb	CHCM	0	1
Hb	GR	0,28	0,14
Hb	Tromb	0,14	0,45
VCM	HCM	1	0
VCM	CHCM	0	1
VCM	GR	-0,69	0
VCM	Tromb	0,02	0,9
HCM	CHCM	0	1
HCM	GR	-0,69	0
HCM	Tromb	0,02	0,93
CHCM	GR	0	1
CHCM	Tromb	0	1
GR	Tromb	0,11	0,55



Anexo 4: Correlación de Spearman los parámetros hematológicos GB, heterófilos, eosinófilos, linfocitos, basófilos, monocitos, y trombocitos de las *Kinosternon leucostomum* en cautiverio.

Kinosternon	Muy fuerte	Fuerte	Medio
Variable 1	Variable 2	Spearman	Pvalue
Tromb	GB	-0,22	0,25
Tromb	Het %	0,18	0,35
Tromb	Eos %	0,46	0,01
Tromb	Bas %	-0,08	0,68
Tromb	Mon %	-0,19	0,32
Tromb	Linf %	-0,19	0,32
GB	Het %	0,13	0,51
GB	Eos %	0,02	0,9
GB	Bas %	-0,23	0,22
GB	Mon %	0,04	0,83
GB	Linf %	0,02	0,9
Het %	Eos %	0,16	0,4
Het %	Bas %	-0,76	0
Het %	Mon %	0,15	0,44
Het %	Linf %	-0,14	0,47
Eos %	Bas %	-0,35	0,05
Eos %	Mon %	-0,1	0,61
Eos %	Linf %	-0,37	0,04
Bas %	Mon %	-0,46	0,01
Bas %	Linf %	-0,13	0,51
Mon %	Linf %	0,09	0,63



Anexo 5: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos Hto, Hb, VCM, HCM, CHCM, proteínas, y trombocitos de las *Chelydra acutirostris* en cautiverio.

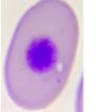
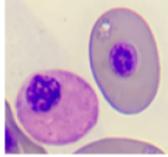
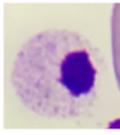
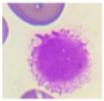
Chelydra	Muy fuerte	Fuerte	Medio
Variable 1	Variable 2	Spearman	Pvalue
Hto%	Prot	-0,01	0,95
Hto%	Hb	1	0
Hto%	VCM	0,71	0
Hto%	HCM	0,71	0
Hto%	CHCM	0	1
Hto%	GR	-0,23	0,22
Hto%	Tromb	-0,02	0,91
Prot	Hb	-0,01	0,95
Prot	VCM	-0,04	0,85
Prot	HCM	-0,04	0,85
Prot	CHCM	0	1
Prot	GR	0,03	0,86
Prot	Tromb	0,11	0,57
Hb	VCM	0,71	0
Hb	HCM	0,71	0
Hb	CHCM	0	1
Hb	GR	-0,23	0,22
Hb	Tromb	-0,02	0,91
VCM	HCM	1	0
VCM	CHCM	0	1
VCM	GR	-0,82	0
VCM	Tromb	-0,02	0,92
HCM	CHCM	0	1
HCM	GR	-0,82	0
HCM	Tromb	-0,02	0,92
CHCM	GR	0	1
CHCM	Tromb	0	1
GR	Tromb	0,04	0,83



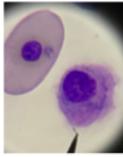
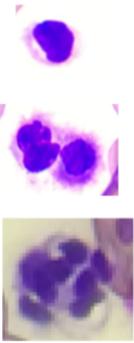
Anexo 6: Correlación de Spearman de los parámetros hematológicos GB, heterófilos, eosinófilos, linfocitos, basófilos, monocitos, y trombocitos de las *Chelydra acutirostris* en cautiverio.

Chelydra	Muy fuerte	Fuerte	Medio
Variable 1	Variable 2	Spearman	Pvalue
Tromb	GB	0,02	0,91
Tromb	Het %	-0,16	0,41
Tromb	Eos %	0,45	0,01
Tromb	Bas %	-0,27	0,14
Tromb	Mon %	-0,02	0,93
Tromb	Linf %	0,28	0,14
GB	Het %	-0,06	0,76
GB	Eos %	-0,21	0,27
GB	Bas %	-0,06	0,76
GB	Mon %	0,08	0,67
GB	Linf %	0,34	0,06
Het %	Eos %	-0,22	0,24
Het %	Bas %	-0,48	0,01
Het %	Mon %	0,27	0,14
Het %	Linf %	-0,33	0,08
Eos %	Bas %	-0,16	0,4
Eos %	Mon %	-0,36	0,05
Eos %	Linf %	-0,23	0,23
Bas %	Mon %	-0,55	0
Bas %	Linf %	-0,33	0,08
Mon %	Linf %	0,39	0,03

Anexo 7: Tabla de referencia de las células hematológicas encontradas en Chelonias teñidas con Diff Quik. Fotos de autoría propia, e información recopilada de toda la bibliografía utilizada en esta investigación.

Célula (Tinción Diff-Quick)	Función	Aumento	Disminución
<p>Eritrocitos (GR)</p>  Binucleado  Mitosis  Inmaduro  Maduro	Transporte de O ₂ y CO ₂	Deshidratación, hipoxia (aumento compensatorio por altura), Enf. de la médula ósea, Inflamación (aumento de binucleación y mitosis).	Hemorragias, Anorexia, Hemoparásitos, Anemia (anemia macrocítica puede deberse a hibernación/ Brumacion prolongada)
<p>Heterófilos</p> 	Fagocitaria, respuesta inmune similar a los neutrófilos de mamíferos (NO producen peroxidasa y fosfatasa ácida)	Daño tisular (infección e inflamación), stress, traumas, neoplasias, Verano	Infecciones, Septicemia, Invierno, Brumacion/ letargia por frío
<p>Eosinófilos</p> 	hipersensibilidad y parasitemia, se han observado casos de fagocitosis.	Parasitosis, inflamaciones, estímulos del sistema inmune, Invierno, Brumacion/ letargia por frío	se la ha relacionado con la estivación, y la migración de la tortuga carreta carreta. sin embargo no se conoce su significancia.
<p>Basófilos</p>  	Similar a en los mamíferos, (reacciones inmunológicas, alergias, liberación de histaminas), sin embargo faltan más estudios.	Hemoparásitos, Infecciones virales, inflamación del tracto respiratorio, parásitos intestinales, necrosis tisular, Invierno, Brumacion/ letargia por frío.	No se conoce su significancia.



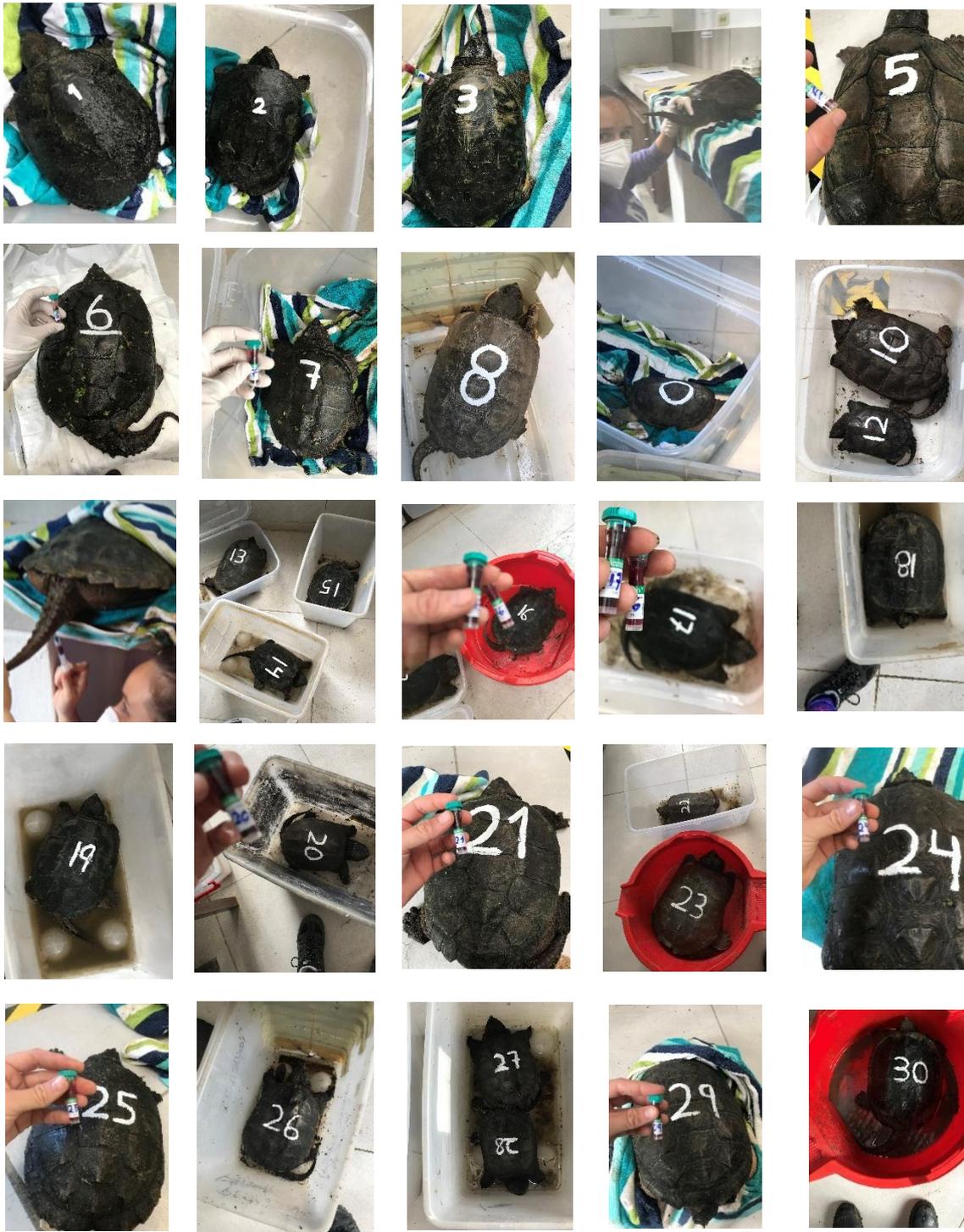
<p>Monocitos.</p> 	<p>Fagocitaria, inflamaciones crónicas</p>	<p>Estomatitis, nefritis crónica, hepatitis granulomatosa, fibropapiloma, anorexia (aumento de vacuolización), Invierno, Brumacion/ letargia por frío</p>	<p>Trastornos de la médula ósea, enfermedades autoinmune.</p>
<p>Linfocitos</p> 	<p>Inmunidad linfocitos T (respuesta inmune) linfocitos B (Inmunoglobulinas)</p>	<p>Hembras y jóvenes, Inflamaciones, Heridas en procesos de cicatrización, parasitismo</p>	<p>Blefaritis, estomatitis, muestras contaminadas con linfa, anorexia, enfermedad linfoproliferativa, inmunosupresión, estrés crónico, Invierno, Brumacion/ letargia por frío.</p>
<p>Trombocitos.</p> 	<p>Hemostasis, coagulación y cicatrización, pueden ser usadas como stem cells hay reportes fagocitosis y ser llamadas a la piscina de eritrocitos, en casos graves de pérdidas eritrocitarias pueden transportar oxígeno.</p>	<p>Anemia hemolítica, hemogregarinas, infecciones,</p>	<p>Anemia aplásica, enfermedad de médula ósea, cirrosis, deficiencia de vit B12.</p>



Anexo 8: Causas de aumento y disminución de los parámetros hematológicos
Hto, proteína, Hb, VCM, HCM, CHCM

Parámetro hematológico	Aumento	Disminución
Hematocrito (PCV)	Machos, adultos edad avanzada, preñez, prehibernación/brumación, deshidratación.	Posthibernación/brumación, enfermedad crónica o degenerativa, pérdida de sangre, mala nutrición, anemia, contaminación de la muestra.
Proteína	Deshidratación, inflamación crónica	Desórdenes metabólicos (hígado, riñones o tracto gastrointestinal), parásitos, malnutrición, sobrehidratación.
hemoglobina	Invierno prehibernación/brumación, deshidratación	Anemia, intoxicación por zinc.
VCM	Enfermedad hepática, anemia macrocítica, adultos edad avanzada, hipotiroidismo, hipoxia Invierno prehibernación/brumación.	Respuesta regenerativa (anemia).
HCM	Anemia hiperocrómica, macrocítica, (déficit de Vit B ₁₂ , ácido fólico) adultos edad avanzada Invierno prehibernación/brumación,.	Anemia por deficiencia de hierro
CHCM	Adultos-edad avanzada, gravidez, Invierno prehibernación/brumación.	Respuesta regenerativa(anemia), anemia por deficiencia de hierro.

Anexo 9: Fotos de especímenes *Chelydra acutirostris*.



Anexo 10: Fotos de especímenes *Kinosternon leucostomum*.





Anexo 11: Hoja de campo y laboratorio

Hoja de campo

Fecha: _____

Tortuga#: _____

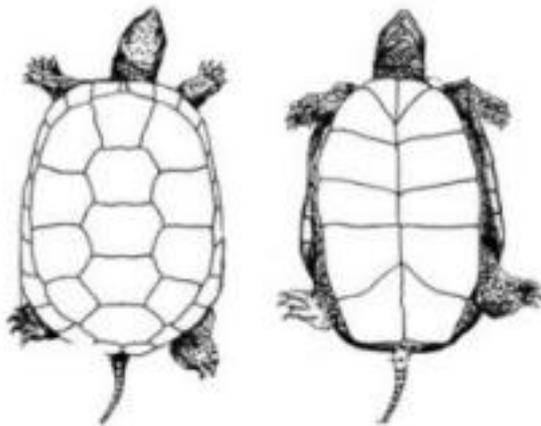
Especie: Kinosternon leucostomum; Chelydra acutirostris.

Examen físico y morfológico/estado general del animal.

LCC: _____ LAC: _____ LRC _____ Peso: _____ Sexo: M H

Evaluación tegumento.

Lesiones	presentes:	Si;	No.
----------	------------	-----	-----



Notas/Observaciones:

Evaluación Cabeza.

Ojos:	Normal; Anormal	_____
Narinas:	Normal; Anormal	_____
Cavidad Oral:	Normal; Anormal	_____

Muestra para exámenes de Laboratorio.

Sitio/lugar de punción: Subcarpacial; Coccígea.

Tubo de heparina 1ml (___). Jeringa (___). Limpieza de la zona (___) Muestra sin contaminación (___) Marcaje del animal (___)



Hoja de laboratorio

Tortuga#: _____

ORDEN: hematocrito, frotis, tinción Nath and Henrik, observación del hematocrito, observación de proteína, tinción del frotis Diff Quik, observación cámara de Neubauer Nath and Henrik, observación del frotis teñido.

hto (%)	Prot (g/dl)	GR (Cel/ μ L)	GB (Cel/ μ L)	Het (%)	Eos (%)	Bas (%)	Mon (%)	Linf (%)	Trom (Cel/ μ L)
F. Absoluta									

Neubauer: GR= GRX10.000 GB= GBX200

Frotis: Fórmula leucocitaria %

Trombocitos: con el aumento de 100X los 10 campos del frotis dividir el resultado para 10 (promedio de la cuenta) y multiplicarlo para 20.000 dando células por mililitro.

Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	TOTAL
Trombos											
Considerado	Disminuido			Normal			Aumentado				

En la computadora, cálculos:

Formula leucocitaria absoluta= regla de 3

$$\begin{array}{r} \#GB \\ \times \\ \hline 100\% \\ \times \\ \hline \text{het}\% \end{array}$$

$\text{Hb} = \frac{\text{Hematocrito (Hto)}}{3 \text{ o } 3,3}$	$\text{VCM} = \frac{\text{Hematocrito (\%)}}{\# \text{ GR (Cel/L)}} \times 10$
$\text{HCM} = \frac{\text{Hemoglobina en sangre} \times 10}{\# \text{ GR (Cel/L)}}$	$\text{CHCM} = \frac{\text{Hemoglobina en sangre} \times 100}{\text{Hematocrito}}$



Anexo 12: Aprobación de la investigación por el MAAE

Previo al trabajo de campo y según lo establecido por el Ministerio del Ambiente y Agua las investigaciones realizadas en especies silvestres deben contar con la aprobación del permiso de recolección de muestra emitido por el área de biodiversidad de la entidad, razón por la cual realicé el trámite respectivo que me permitió ejecutar mi trabajo de investigación.

MINISTERIO DEL AMBIENTE Y AGUA

PRONUNCIAMIENTO FAVORABLE No. MAAE-ARSFC-2021-1096

Srta. NEVES DE CARVALHO DE ICAZA OEHLKE FLORA BEATRIZ,

Una vez que la propuesta para Autorización de Recolección de Especímenes de la Diversidad Biológica Sin Fines Comerciales para Investigación Científica, ha sido analizada, el Ministerio del Ambiente y Agua en uso de las atribuciones que le confiere el Acuerdo Interministerial SENESCYT-MAE N°001 aprueba el Proyecto **Parámetros hematológicos en las tortugas de pantano Chelydra acutirostros y Kinosternon leucostomum en cautiverio.**, al haber cumplido con los parámetros técnicos, administrativos y legales, establecidas en la ley.

Por lo dispuesto, se solicita realizar el pago correspondiente en:

BANECUADOR
RUC MAAE: 1768192860001
CUENTA CTE. No. 3001480604 / SUB-LÍNEA: 190499
TIPOS DE SERVICIOS: Servicios de Áreas Protegidas y Vida Silvestre

En base a lo dispuesto en el Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria.

Atentamente,

CEVALLOS ROMAN GERARDO RAMIRO

DIRECCIÓN DE BIODIVERSIDAD

Dirección: Calles Madrid 1159 y Antisana Código postal: 17025 / Guila - Ecuador
Teléfono 033-2 355-1950 - www.mambiente.gob.ec

1 / 1