

**Universidad Nacional
Escuela de Medicina Veterinaria
Facultad Ciencias de la Salud**

**Evaluación del perfil sanguíneo de una población de
hembras adultas de tortugas marinas (*Chelonia
mydas*)**

Modalidad : Tesis de grado

**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado
Académico de Licenciatura en Medicina Veterinaria**

Arnoldo Redondo Zúñiga

**Campus Presbítero Benjamín Núñez
2008**

TRIBUNAL EXAMINADOR

Dr. Jorge Quirós
Decano

Dr. Carlos Jiménez
Director

Dra. Ana Meneses
Tutora

Dr. Mauricio Jiménez
Lector

Fecha: _____

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios y a la Vida que me ha permitido realizar mis sueños profesionales.

A mis padres que sin ellos no hubiera llegado a donde estoy y como reconocimiento a todo su esfuerzo, consejos y cariño que ha formado la persona que soy.

A mis hermanos y familia por su gran apoyo y cariño.

A Paola y Andres que son el motor de mi vida y por los que día a día trato de ser una mejor persona, gracias por su amor y apoyo.

Y a las tortugas por ser un extraordinario ser vivo que comparte con nosotros nuestro hogar la tierra.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, hermanos y familia por su incondicional apoyo.

A Paola y Andres por alegrarme la vida día a día y nunca dejarme de apoyar.

A la Dra. Ana Meneses, mi tutora, por su gran apoyo, excelente trabajo, conocimientos, paciencia, buenos consejos y horas de esfuerzo y trabajo para poder realizar este trabajo.

Gracias por toda la ayuda y dedicación.

Al Dr. Mario Santoro por las largas horas de trabajo recolectando muestras, por su gran ayuda y el gran conocimiento del tema que me brindó.

Al Dr. Mauricio Jiménez por sus buenos consejos y amistad durante toda mi carrera y por su empuje y apoyo para llevar a cabo y finalizar el presente trabajo.

Al Laboratorio de Análisis Clínicos de la Universidad Nacional y su personal por su gran ayuda desinteresada.

Al Dr. Guillermo Echandi y al personal del Laboratorio de Análisis Clínico de la Clínica Santa Rita por su invaluable ayuda con el procesamiento de las muestras.

Al personal y voluntarios de la estación biológica de la Caribbean Conservation Corporation (CCC) y a los guardaparques del Parque Nacional Tortuguero, que durante mi estadía en el parque me brindaron toda la ayuda necesaria para la recolección de muestras y realización del estudio.

A todos mis amigos y compañeros que en algún momento se involucraron con mi trabajo o me dieron grandes palabras de confianza y apoyo.

INDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
INDICE DE CONTENIDOS	iii
INDICE DE CUADROS	v
INDICE DE FIGURAS	vi
LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	2
1.2 Justificación	6
1.2.1 Observación morfológica de las células sanguíneas	9
1.2.2 Análisis sanguíneos	10
1.2.2.1 Hemograma	10
1.2.3 Análisis bioquímico	10
1.3 Objetivos	12
1.3.1 Objetivo general	12
1.3.2 Objetivos específicos	12
2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS	13
2.1 Descripción del área de estudio	13
2.2 Tamaño de la muestra	14
2.3 Toma de la muestra	14
2.3.1 Sistema de sangrado	14
2.3.2 Manejo y conservación de la muestra	15

2.4 Análisis sanguíneo	15
2.5 Métodos Analíticos	16
2.6 Métodos Estadísticos	17
2.7 Cronograma	17
3. RESULTADOS	18
3.1 Observación morfológica de las células sanguíneas	18
3.2 Análisis sanguíneos	22
3.2.1 Hemograma	22
3.2.2 Análisis bioquímicos	23
4. DISCUSIÓN	25
5. CONCLUSIONES	30
5.1 Recomendaciones	32
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
7. ANEXOS	40

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Tamaño de los eritrocitos y núcleos de <i>Chelonia mydas</i> de vida libre del Parque Nacional Tortuguero	21
Cuadro 2: Tamaño de los leucocitos de <i>Chelonia mydas</i> de vida libre del Parque Nacional Tortuguero	21
Cuadro 3: Valores hematológicos de <i>Chelonia mydas</i> de vida libre del Parque Nacional Tortuguero	22
Cuadro 4: Valores de química sanguínea de <i>Chelonia mydas</i> de vida libre del Parque Nacional Tortuguero	24
Cuadro 5: Tamaño de los eritrocitos y núcleos de <i>Chelonia mydas</i> por diferentes autores.....	40
Cuadro 6: Tamaño de los leucocitos de <i>Chelonia mydas</i> por diferentes autores.....	41
Cuadro 7: Valores hematológicos de <i>Chelonia mydas</i> por diferentes autores.....	42
Cuadro 8: Valores de química sanguínea de <i>Chelonia mydas</i> por diferentes autores..	43

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Características de la especie <i>Chelonia mydas</i>	44
Figura 2: Rutas hipotéticas de migración de la tortuga verde.....	45
Figura 3: Ciclo de vida genérico de las tortugas marinas.....	46
Figura 4: Vista dorsal de la vena yugular externa y de la vena vertebral.....	47
Figura 5: Fotografía de la técnica empleada para el sangrado.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

ADN: ácido desoxirribonucleico.
ALP o SAP: fosfatasa alcalina.
ALT: alanino aminotransferasa.
AST: aspartato aminotransferasa.
BUN: nitrógeno ureico.
Ca: calcio.
CCC: caribbean conservation corporation.
CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media.
Cl: cloro.
CITES: Convención Internacional sobre el tráfico de especies amenazadas de flora y fauna.
°C: grados centígrados.
Fe: hierro.
HCM: hemoglobina corpuscular media.
K: potasio.
Mg: magnesio.
MINAE: Ministerio Nacional del Ambiente y Energía.
N: número.
Na: sodio.
P: fósforo.
PFA: proteína de fase aguda.
SINAC: sistema nacional de áreas de conservación.
UICN: Unión Internacional para la conservación de la naturaleza.
VCM: volumen corpuscular medio.
%: porcentaje.
µm: micrómetro.
µl: microlitros
mg/dl: miligramo por decilitro.
g/dl: gramo por decilitro.
µg/dl: microgramo por decilitro.
Mmol/L: minimoles por litro.
IU/L: unidades internacionales por litro.
Coef: coeficiente.
Desv: desviación.
±: más menos.
DV: desviación estándar.
Min: mínimo.
Max: máximo.

RESUMEN

En el presente estudio se establecieron los valores de referencia de hematología y de bioquímica sanguínea de una población silvestre de hembras adultas de tortugas verdes marinas (*Chelonia mydas*), que llegan a desovar a las playas de anidación del parque Nacional Tortuguero, en la costa caribe de Costa Rica.

Las muestras de sangre fueron colectadas de 100 individuos aparentemente sanos, entre los meses de julio y octubre del 2004.

El valor promedio, máximo, mínimo, desviación estándar, coeficiente de variación, mediana y moda fue calculado para 9 parámetros hematológicos y para 21 metabolitos séricos evaluados.

Se identifican y describen morfológicamente 7 tipos de células sanguíneas (eritrocitos, heterófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos, monocitos y trombocitos).

Tanto la descripción como los resultados de la hematología y bioquímica sanguínea se compararon con otros estudios similares realizados en diferentes países.

ABSTRACT

In this document blood's haematology and biochemistry reference values for a wild adult female green sea turtle (*Chelonia mydas*) population that come to spawn in Tortuguero National Park's nesting beaches (Costa Rica's Caribbean coast), have been established.

The blood samples of 100 seemingly healthy subjects were collected between the months of July and October, 2004.

The average, maximum and minimum values, standard deviation, variation quotient, median and mode were calculated for 9 haemathological parameters and for 21 evaluated serine metabolites.

Seven kinds of blood cells (erythrocytes, heterophiles, eosinophiles, basophiles, lymphocytes and thrombocytes) are identified and morphologically described.

Both the description and the results of blood's haematology and biochemistry were compared with similar studies from other countries.

1. INTRODUCCIÓN

El daño a la ecología y deterioro del medio ambiente ha determinado que se despierte el interés por las especies silvestres, en especial por aquellas que se consideran en peligro de extinción.

Costa Rica es un país rico en recursos naturales y una amplia biodiversidad de flora y fauna, pero en los últimos años, no escapa a la tendencia mundial de sobreexplotación, mal manejo y posible extinción de los recursos de vida animal y vegetal del país.

La protección del recurso animal y por ende de una especie amenazada de extinción debe basarse en investigaciones científicas que nos permitan conocer más acerca de su fisiología normal, patologías, comportamiento, y no solo de un manejo racional y sostenido del medio ambiente.

En nuestro país se conoce poco acerca del estado de salud de las poblaciones de animales silvestres de vida libre y de cómo las enfermedades pueden afectar la supervivencia de estas especies, por ello, es de suma importancia desde el punto de vista de nuestra profesión que se realicen investigaciones en este campo, las cuales son de gran utilidad para investigadores, biólogos y médicos veterinarios que trabajen en estos temas tanto en Costa Rica como en otros países y así ayudar en la preservación de las especies.

Además, es necesario el desarrollo de protocolos no sólo para evaluar el estado clínico de los animales y el impacto de cada enfermedad sobre poblaciones particulares, sino también para recomendar la estandarización de procedimientos específicos para tratamientos y medidas de prevención (Chacón et al., 2001). La aplicación de los exámenes de laboratorio es de suma importancia para evaluar el estado de salud general, además permite confirmar o descartar un diagnóstico, evaluar una terapia y pronóstico

de las enfermedades, así mismo en la detección de desbalances nutricionales, enfermedades subclínicas a nivel de hato e identificar poblaciones silvestres susceptibles, no aptas para liberación y reintroducción (Meneses et al., 1993). Previo a la aplicación de los análisis sanguíneos se debe contar con parámetros fisiológicos que son la guía en la interpretación clínica (Meneses et al., 1993).

En tal sentido se consideró realizar el presente estudio para determinar valores referenciales de hematología y química clínica en la tortuga verde marina (*Chelonia mydas*), a fin de que estos datos puedan ser utilizados para complementar la evaluación clínica y diagnóstica y mejorar el manejo de la especie dentro de programas de conservación.

1.1 Antecedentes

Las tortugas marinas se encuentran entre los animales vertebrados más primitivos en existencia y representan a un grupo muy singular de la biodiversidad mundial. Sus primeros ancestros aparecieron hace más de 100 millones de años y sus predecesoras fueron tortugas terrestres que se aventuraron al mar. Dentro del proceso de adaptación sus extremidades se fueron transformando en aletas en forma de remos, sus cuerpos se aplanaron y se volvieron de formas hidrodinámicas (Chacón et al., 2001).

Latinoamérica y el Caribe están dotados de un peculiar e importante patrimonio marítimo. Las zonas costeras son ecosistemas esenciales para la protección, la reproducción y la alimentación para una innumerable cantidad de organismos, tales como las tortugas marinas, las cuales tienen una contribución sustancial a los ecosistemas (Chacón et al., 2001). Ellas promueven el crecimiento de las plantas por medio de la alimentación, ya que al ingerir los pastos marinos se incrementa la productividad de estos, tal y como lo hacen los grandes mamíferos en la tierra

(Bjorndal, 1997). También, las tortugas tienen el papel de mantener la dinámica de los arrecifes, por medio de la ingesta de las esponjas, las cuales eventualmente pueden rodear y asfixiar los arrecifes, desde este punto de vista se puede sugerir que las tortugas son controladores biológicos (Bjorndal, 1997). Según la opinión de Frazier (1999), las tortugas marinas que llegan a las playas también fertilizan las zonas costeras de los continentes e islas, ellas se comportan como transportadores biológicos de toneladas de nutrientes que llegan a la orilla. Este proceso se convierte en un ciclo regular predecible a través de millones de años.

A pesar de su importancia ecológica y el potencial beneficio social derivado de su conservación, las poblaciones de tortugas marinas están en peligro de extinción. Anteriormente las tortugas marinas eran muy abundantes, pero en los últimos 400 años, la demanda por la carne, huevos, piel y caparazones, ha conllevado a una disminución en sus poblaciones, incluso algunas actividades como la sobrepesca de adultos por culturas antiguas contribuyen al estado crítico actual del ambiente marino (Jackson y Bjorndal, 2001). La destrucción de los hábitats de alimentación, desove y la contaminación de los océanos, también ha puesto en peligro la sobrevivencia de las tortugas marinas. Muchas poblaciones se extinguieron y otras están siendo destruidas (Caribbean Conservation Corporation, 2002).

Todas las especies de tortugas marinas han sido enlistadas como especies en severo peligro de extinción en el libro rojo de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) y en el apéndice I de la Convención Internacional sobre el Tráfico de Especies Amenazadas de Flora y Fauna (CITES); lo que certifica su inminente estado crítico (Chacón et al., 2001).

Las tortugas taxonómicamente pertenecen a la siguiente clasificación:

Reino: Animalia

Phylum: Chordata

Clase: Reptilia

Orden: Testudines

Suborden: Cryptodira

Familia: Cheloniidae

Género: *Chelonia*

Especie: *Chelonia mydas*

Las tortugas marina son animales vertebrados fáciles de reconocer por su concha, que sirve de protección para los órganos internos y consiste de una parte dorsal llamada caparazón y una parte ventral denominada plastrón. La tortuga marina laúd (*Dermochelys coriacea*) se distingue por su caparazón suave, cubierto por una gruesa capa de piel parecida al cuero. Las tortugas carecen de dientes en las mandíbulas. Tienen oídos primitivos, un excelente sentido del olfato y una buena visión bajo el agua. Sus aletas son largas y presentan una o dos uñas reducidas en las patas delanteras, con la excepción de la tortuga laúd, la cual carece de uñas. La cola es corta en las hembras y más larga en los machos ya que estos la utilizan para sujetar a la hembra en el momento de aparearse. Las tortugas marinas son animales de sangre fría y utilizan la luz solar para calentar sus cuerpos porque no son capaces de mantener una temperatura corporal.

En la actualidad en América Latina existen siete especies de tortugas marinas y una subespecie representada por las familias Cheloniidae y Dermochelyidae, en donde se encuentran todos los miembros vivientes. La primera familia incluye las especies *Caretta caretta* (caguama o cabezona), *Eretmochelys imbricata* (carey), *Lepidochelys*

olivacea (parlama, paslama o lora), *Chelonia mydas* (verde o blanca), *Natator depressus* (espalda plana o kikila, no está en Centroamérica), *Lepidochelys kempii* (lora, no está en Centroamérica) y la subespecie *Chelonia mydas agassizii* (la verde del Pacífico, negra o prieta). La segunda familia solamente posee una especie viviente, la *Dermochelys coriacea* (baula, laúd, canal) (Chacón et al., 2001).

En cuanto a la tortuga verde (*Chelonia mydas*), especie de interés del presente estudio, se encuentra en todas las aguas subtropicales y tropicales, incluyendo aquellas cerca de Centro América, Bahamas y Estados Unidos. Ellas permanecen cerca de la costa y alrededor de islas y viven generalmente en bahías, raramente se observan en mar abierto. Pueden viajar grandes distancias entre los sitios de alimentación y las playas de desove (Caribbean Conservation Corporation, 2002).

El caparazón de esta tortuga puede medir hasta 1,40 metros de largo y el color es café ligero con manchas oscuras. La tortuga verde adulta pesa entre 110 y 200 kilos y se identifica por dos escamas prefrontales ubicadas entre los ojos. Dependiendo en parte de su tamaño, la hembra puede depositar desde 60 hasta 170 huevos, el número promedio de huevos por nido puede variar de 106 a 119 (Bjorndal y Carr, 1989) y se han registrado hembras que salen a desovar hasta nueve veces en la misma temporada. El período de incubación de los huevos es de 48 a 70 días.

La tortuga verde desova en intervalos normalmente de 2 a 4 años (Caribbean Conservation Corporation, 2002). Esta especie posee un promedio de reanidación de 2,8 veces por temporada, aunque el número máximo de anidaciones por temporada puede ser de ocho, el intervalo promedio entre reanidaciones es de 12.1 días. En general se puede decir que esta especie anida en Costa Rica desde Barra del Colorado al norte hasta Gandoca al sur, concentrándose en playa Tortuguero desde junio a noviembre de

cada año (Chacón y Aráuz, 2001). La mayor actividad de reproducción ocurre en julio, agosto y setiembre.

La dieta de la tortuga verde cambia significativamente durante su vida. Cuando está joven come gran cantidad de alimentos; por ejemplo, crustáceos pequeños y zooplancton. Cuando alcanza la longitud de 20 a 25 centímetros su dieta varía incluyendo pastos, al llegar a adultas son las únicas tortugas marinas estrictamente herbívoras. Su dieta está conformada por algas y pastos, sus mandíbulas finamente afiladas en forma de serrucho, les ayuda a rasgar el pasto (Caribbean Conservation Corporation, 2002).

Algunas otras características, ciclo de vida y rutas migratorias de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) se presentan en anexos.

1.2 Justificación

La población de tortuga verde que desova en la playa de Tortuguero, Costa Rica, es hoy en día, la más grande de la costa del Mar Caribe (Bjorndal, 1999). Afortunadamente, existe una tendencia positiva al incremento de la especie, se registra un aumento de 18.000 hembras en 1970 a 45.000 hembras en 1996. Sin embargo, hay que interpretar estos resultados con cautela, ya que aún continúa la caza incontrolada de la tortuga verde a lo largo y ancho del Caribe (Bjorndal, 1999). En Los Cayos Miskitos de Nicaragua, por ejemplo, se cazan por lo menos 11.000 tortugas por año (Lagueux, 1998).

La población de tortugas marinas se ve afectada negativamente por numerosos factores humanos tales como: la recolección de huevos, cacería, pesca desmedida, desarrollo costero, accidentes, contaminación de mares y playas, tóxicos, ingestión de basura, muros de arena, drenajes, turismo, etc. Además, por otros factores no humanos

como los depredadores naturales de huevos (cangrejos, serpientes, mapaches, pizotes, coyotes, cerdos, perros, etc.) y fenómenos naturales como huracanes y tormentas. También son afectadas por una gran variedad de enfermedades (Chacón et al., 2001).

De las enfermedades que afectan a las tortugas marinas se conoce poco, pero evidencias recientes indican que pueden ser un factor limitante en las poblaciones. El origen de las enfermedades y su transmisión no se limita solo al ambiente marino. Una variedad de agentes microbianos y parásitos, tanto internos como externos, se involucran como agentes etiológicos. Por lo tanto son necesarios más estudios sobre prevalencia, impacto y forma de transmisión de estas enfermedades (National Marine Fisheries Service and U.S Fish and Wildlife Service, 1998). En la tortuga marina se han diagnosticado enfermedades causadas por bacterias como por ejemplo la neumonía, infecciones de la piel y encefalitis. También se han documentado infecciones por hongos y virus (Caribbean Conservation Corporation, 2002). Entre las enfermedades encontradas con una amplia distribución se presentan los fibropapilomas; enfermedad documentada por primera vez en tortugas verdes en 1938. Desde entonces se han reportado casos en tortugas cabezonas, tortugas loras, tortugas carey y tortugas planas (Caribbean Conservation Corporation, 2002).

Para conocer más acerca del papel que juegan los agentes etiológicos en la mortalidad de las tortugas marinas, se requiere de estudios interdisciplinarios y contar con métodos de diagnóstico apropiados e interpretaciones cuidadosas de los resultados. Algunos procedimientos diagnósticos pueden ser conducidos en el campo, pero la mayoría requiere de análisis de laboratorio y en este caso la recolección y manipulación de las muestras es crítica, en especial la sangre (Herbst, 1999). La recolección de sangre no ha sido siempre parte del trabajo rutinario de campo en especial en poblaciones de

vida libre, pero debido a la fácil obtención e importante información que se puede obtener su aplicabilidad es cada día mayor.

En las tortugas marinas, los estudios sobre la determinación del sexo por medio del análisis de la hormona esteroidea en el plasma (Owens, 1999; Wibbels, 1999) y la realización de análisis genéticos del ácido desoxirribonucleico (ADN), derivado de las células sanguíneas (Fitz Simmons et al., 1999), han incentivado la aplicación de la recolecta de la sangre para otros estudios. De una muestra de sangre se puede obtener información sobre la salud del animal, por ejemplo, un resultado bajo del hematocrito, demuestra la presencia de anemia (Herbst, 1999), la cual se puede asociar con enfermedades debilitantes crónicas tales como neoplasia, parasitismo severo (sanguijuelas), y anorexia prolongada. El encontrar una serie de animales con hematocrito bajo podría ser razón para iniciar una investigación sobre posibles enfermedades (Lutz et al., 2003). El suero proporciona un recurso para el análisis de la bioquímica y de la serología (Lutz et al., 2003).

Los análisis sanguíneos hematológicos y bioquímicos son de gran valor en la práctica veterinaria, los análisis junto con el examen físico completo y la historia clínica del paciente ayudan al Médico Veterinario a llegar al diagnóstico definitivo, emitir un pronóstico y valorar la eficiencia del tratamiento. La prueba de hematología de mayor utilidad en la práctica médica veterinaria es el denominado hemograma, y dentro de la química sanguínea las pruebas que evalúan la funcionalidad renal, hepática y metabólica. La aplicabilidad de los exámenes de laboratorio exige tener conocimiento previo de los valores referenciales, los cuales varían de acuerdo con los estados fisiológicos normales así como con las afecciones patológicas. Las variaciones considerables que existen normalmente entre los individuos dentro de una población específica pueden atribuirse al sexo, la edad, la nutrición, el ejercicio físico, la

temperatura ambiente, los ciclos diurnos- nocturnos y sexuales; por lo tanto, los valores normales deben considerarse como guías generales, más que como criterios rígidos.

Debido a la importancia y carencia de valores sanguíneos referenciales tanto en hematología y química clínica, en el presente estudio se establecieron diferentes variables sanguíneas de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) en vida libre del Parque Nacional Tortuguero.

1.2.1 Observación morfológica de las células sanguíneas.

Examinar el frotis o extensiones sanguíneas es parte indispensable en el examen hematológico (Willard et al., 1989), brinda información acerca de alteraciones de forma, color de los diferentes tipos de células sanguíneas y también se detecta la presencia de hemoparásitos (Jain, 1986; Sirois, 1995).

En animales silvestres pequeños, donde las cantidades de sangre son limitadas, este podría ser el único procedimiento que podría llevarse a cabo. Debido al gran número de diferentes especies animales es necesario conocer la morfología celular de la sangre normal y cómo puede ser influenciada por diferentes procesos patológicos (Hawkey, 1989).

La célula sanguínea más comúnmente encontrada en la sangre es el *eritrocito*, generalmente hay aproximadamente 1.000 eritrocitos por cada leucocito. La función principal del eritrocito es el transporte del oxígeno de los pulmones a las células y tejidos de todo el cuerpo, y acarrear el dióxido de carbono generado por las células de vuelta a los pulmones (Voigt, 2000). El eritrocito en los reptiles es de forma ovalada, nucleado y varía de tamaño según la especie.

Los *leucocitos* son también denominados glóbulos blancos, los cuales se han dividido en dos grupos de acuerdo a su morfología, origen y función, a saber: fagocitos

que incluye a los granulocitos (heterófilos, eosinófilos y basófilos) y monocitos, y los inmunocitos que comprenden a los linfocitos. Todos participan en los mecanismos de defensa o inmunitarios, son transportados por el torrente sanguíneo y sus funciones las cumplen en el tejido conectivo. Su valor depende de la especie, al igual el tipo de leucocito que predomina. (Harvey, 2001; Meneses et al, 1993).

1.2.2 Análisis sanguíneos

1.2.2.1 Hemograma

El hemograma completo es una parte integral del proceso de diagnóstico de cualquier enfermedad sistémica. Está constituido por el hematocrito, la hemoglobina, el recuento total de eritrocitos y los índices hemáticos a saber: concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), volumen corpuscular medio (VCM) y hemoglobina corpuscular media (HCM). Además incluye el recuento total de leucocitos y el recuento diferencial de leucocitos y un examen cualitativo del frotis sanguíneo para evaluar la morfología celular (Davidson et al, 2000).

1.2.3 Análisis Bioquímicos

La medición de los elementos químicos que componen los diferentes líquidos del organismo, es una parte del examen integral que se realiza para conocer las alteraciones bioquímicas en diferentes patologías y la naturaleza de las enfermedades.

Las estimaciones bioquímicas en sangre incluyen cualquier determinación de la amplia variedad de las sustancias presentes en el plasma o suero a saber: proteínas totales, albúmina, globulina, fibrinogeno, glucosa, nitrógeno ureico, creatinina, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, bilirrubina total, fosfatasa alcalina (SAP o ALP), aspartato amino transferasa (AST), alanino amino transferasa (ALT), calcio, fósforo,

magnesio, hierro, cloro, sodio y potasio (Bush, 1999). La sangre total coagulada libera por retracción el suero que tiene prácticamente la misma composición del plasma, a excepción del fibrinógeno y los factores de coagulación II, V y VII (Jain, 1986). Mediante centrifugación de la sangre, previa obtención con un anticoagulante, obtenemos la separación del plasma de las células sanguíneas. El plasma en la mayoría de las especies es de color amarillo y transparente (Meneses et al, 1993; Payne, 1987). El color del plasma puede variar debido a la especie, dieta y condiciones fisiológicas o patológicas; en general ante una ictericia el plasma se puede presentar amarillo fuerte; rojo en un cuadro de hemólisis intravascular, y blancuzco y/o turbio ante la lipemia (Davidson et al, 2000; Meneses et al, 1993).

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

- * Determinar diferentes variables hematológicas y bioquímicas de hembras adultas de la especie *Chelonia mydas* (tortuga verde marina) en el Parque Nacional Tortuguero.

1.3.2. Objetivos Específicos

- * Establecer datos sanguíneos referenciales preliminares de una población de hembras adultas de tortuga marina aparentemente sana, que pueda ayudar en el diagnóstico presuntivo de animales enfermos y en aspectos biológicos de la especie.
- * Describir la morfología de las células sanguíneas.
- * Comparar los datos obtenidos con otros estudios similares de la misma especie realizados en otros países.

2. METODOLOGÍA

2.1. Descripción del área de estudio

El trabajo se realizó en una de las playas de anidación de la *Chelonia mydas* del Parque Nacional Tortuguero. Las playas del Parque son el sitio de desove de mayor importancia en el Hemisferio Occidental para la tortuga verde, además a este sitio llegan a desovar otras especies de tortugas marinas como la baula, carey y cabezona.

El Parque Nacional Tortuguero se estableció en 1975 con apoyo de la Corporación Caribeña para la Conservación (Caribbean Conservation Corporation, 2002) y con el propósito de proteger la playa de desove de las tortugas marinas y la fauna y flora de los ecosistemas aledaños. El parque tiene una extensión de más de 26.000 hectáreas y protege 29 kilómetros de playa de desove. La localización de la playa por medio de coordenadas son desde la boca del río Tortuguero (10°35.80' N, 83°31.47' O) hasta la desembocadura del río Parismina (10°19.04'N, 83°21.39'

O). El Parque, junto con el Refugio Nacional de Vida Silvestre Barra del Colorado (ubicado al norte) incluyen el remanente más grande de Bosque Tropical muy Húmedo de Bajura de toda la costa del caribe de Costa Rica (Caribbean Conservation Corporation, 2002). Tortuguero presenta un clima caliente y húmedo con una precipitación pluvial promedio de 5.000-6.000 milímetros anuales. Este tipo de ambiente propicia la presencia de ecosistemas diversos y distintos, como el matorral de costa, el bosque tropical muy húmedo premontano, yolillales, el bosque pantanoso y el pantano herbáceo, entre otros (Caribbean Conservation Corporation, 2002).

Para la selección de las tortugas hembras y su respectivo muestreo (toma de sangre) se realizaron caminatas nocturnas comprendidas entre las 8:00 PM a 4:30 AM, recorriendo una distancia aproximada de 8 Km diarios. Este procedimiento se realizó durante 2 o 3 días de la semana por alrededor de 2 meses (continuos) del periodo de anidación.

Se contó con la autorización (para la recolección de las muestras de sangre) del Sistema Nacional de Áreas de Conservación (SINAC)- Ministerio del Ambiente y Energía (MINAE), según la resolución número 091-2003-OFAU y la 081-2004-OFAU.

2.2. Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra fue de 100 tortugas, hembras y adultas que llegaron a desovar a la playa durante la noche. El número y la selección de los animales se realizaron por el método de conveniencia (Chávez, 1989; Figueroa, 1991; Engstrom, 1994; Valverde, 1997; Troëng 1997).

2.3. Toma de muestra

2.3.1. Sistema de sangrado

La toma de muestras de sangre se realizó por medio del sistema al vacío o vacutainer (Becton Dickinson). Para la realización del hemograma se utilizó el anticoagulante heparina y para la obtención del suero no se usó ningún anticoagulante como es lo indicado (Meneses et al., 1993).

La sangre fue extraída directamente de los senos cervicales dorsales técnica que fue desarrollada por Edward Scura y asociados, en la granja Cayman Turtle Farm, Ltd., Grand Cayman Island (Owens y Ruiz, 1980). Esta técnica es simple, rápida y se adapta a condiciones de campo.

Es muy importante resaltar que a la hora de la extracción de la sangre se trata de no molestar ni interrumpir la labor de la tortuga y que prácticamente solo se recolectaba sangre en el momento que la tortuga esta en el proceso de ovoposición en el cual entra como en una especie de relajación y trance que no se ve alterado por el rápido procedimiento.

En anexos se pueden observar un diagrama de la anatomía circulatoria y otras fotografías del método de sangrado.

2.3.2. Manejo y conservación de las muestras

Posterior a la extracción las muestras de sangre total se homogenizaron por inversión lenta y se colocaron en posición vertical en una hielera a una temperatura alrededor de 4 °C (Meneses et al., 1993). Luego fueron trasladadas al Laboratorio de Análisis Clínicos de la Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional. Los hemogramas y frotis sanguíneos se realizaron en un periodo de 3 días postoma.

El suero para las determinaciones bioquímicas fue separado de la sangre entera dentro de un periodo de 1 hora a 3 horas. La separación se realizó en la estación biológica y de guardaparques del Parque Tortuguero, usando una centrífuga clínica

(Damon, EC, División. IEC-MB. Clinical centrifuge) y se almacenó a -20 °C. La cuantificación de los metabolitos químicos se realizó en el Laboratorio Clínico de la Clínica Santa Rita, San José.

2.4. Análisis sanguíneos

Las pruebas laboratoriales a realizar fueron el hemograma completo, con la excepción del cómputo de eritrocitos. Los parámetros bioquímicos evaluados de cada animal fueron: proteínas totales, albúmina, globulina, glucosa, nitrógeno ureico, creatinina, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, bilirrubina total, fosfatasa alcalina (SAP), alanina aminotransferasa (ALT), aspartato amino transferasa (AST), calcio, fósforo, magnesio, hierro, cloro, sodio, potasio (Bolten & Bjornal, 1992).

2.5. Métodos analíticos

Los parámetros hematológicos se realizaron por medio de métodos manuales, la determinación del hematocrito se cuantificó con el método de microhematocrito para ello se utilizó la centrífuga de microhematocrito (Damon, EC, División. IEC-MB, centrifuge Microhematocrit), y para la lectura final el lector de microhematocrito (Damon/IEC. División IEC) (Meneses et al., 1993). La cuantificación de la hemoglobina se realizó por medio del método de cianometahemoglobina, el reactivo a utilizar fue el de Drabkin (cianuro de potasio y ferricianuro de potasio), las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro de marca Coleman junior II. Modelo 6/20 (Meneses et al., 1993). Para el cómputo de leucocitos se utilizó el método manual con el reactivo de floxina buferizada.

La observación morfológica de las células sanguíneas y el diferencial leucocitario se realizó en frotis sanguíneos teñidos con el colorante May Grünwald-Giemsa (Meneses et al., 1993).

Las determinaciones de química sanguínea se cuantificaron por medio de métodos colorimétricos y cinéticos automáticos, utilizando un espectrofotómetro Synchron CX5CE y reactivos de la casa comercial Beckman coulter, INC, California, USA.

2.6. Método estadístico

Los análisis estadísticos comprendieron las medidas de tendencia central como la media aritmética o promedio, la mediana, la moda y mediciones de variabilidad como el rango, desviación estándar y el coeficiente de variación (Mendenhall et al., 2002).

2.7. Cronograma

La toma de las muestras de sangre se realizó durante los meses de julio a octubre al año 2004, periodo de anidación y desove de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) en las playas del Parque Nacional Tortuguero.

En forma simultánea al estudio bioquímico se desarrolló un banco de sueros, el cual se encuentra en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

3. RESULTADOS

Las diferentes variables sanguíneas no se realizaron en todas las muestras recolectadas, debido a razones como cantidad insuficiente de sangre o suero, y sueros hemolizados, los cuales se descartaron. El hematocrito, hemoglobina y CHCM se realizaron en un mínimo de 88 animales, pero el leucograma se realizó solamente en 50 muestras debido al escaso número de células sanguíneas encontradas, lo que impidió en sí obtener el número total y el porcentaje de cada célula.

3.1. Observación morfológica de las células sanguíneas.

La nomenclatura y la descripción de las células sanguíneas se hizo basándose en la descrita por Hawkey y Dennett, (1989).

El análisis morfológico de los frotis sanguíneos evidenció 7 tipos de células, los eritrocitos, los heterófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos, monocitos y plaquetas. Las células sanguíneas fueron muy semejantes entre ellas en cuanto a tamaño, color y granulaciones.

El examen morfológico de los eritrocitos se realizó en 200 células y el de los leucocitos y trombocitos en 50 células, debido a razones como cantidad insuficiente de sangre o suero, y sueros hemolizados, los cuales se descartaron.

Las características morfológicas de las células se describen a continuación:

Eritrocitos: células de un tamaño promedio de 18.20 x 11.86 micras, de forma elíptica (ovalada) con núcleo central de un tamaño promedio de 5.02 x 3.56 micras de color morado y cromatina gruesa. Presentan gran cantidad de citoplasma basófilo o ligeramente acidófilo, algunos animales presentan gránulos azurófilos de un tamaño de 1 micra en el citoplasma. También se observaron eritrocitos inmaduros (eritroblastos) en un porcentaje de alrededor de 2-4%. Dichas células son más pequeñas que el eritrocito normal y el citoplasma es más basófilo.

Heterófilos: es la célula blanca que predomina en número. El tamaño promedio es de 14.45 micras. Las células son redondas con citoplasma prácticamente incoloro y cubierto casi en su totalidad por gránulos de color naranja (eosinófilos) refringentes. Los gránulos no se observan en forma individual sino forman una masa amorfa que desplazan el núcleo hacia la periferia. El núcleo se tiñe de color púrpura claro y presenta uno o dos lóbulos con cromatina densa.

Eosinófilos: células redondas de un tamaño promedio de 18.18 micras. El citoplasma se observa ligeramente basófilo y presenta pocos gránulos redondos, de 6 a 15, de color naranja refringente los cuales se ubican cerca del núcleo y no cubren el citoplasma. El núcleo es pequeño se encuentra adosado a un lado y de color morado.

Basófilos: Son células redondas, presentan un núcleo con cromatina densa, citoplasma ligeramente basófilo con gránulos morados, los gránulos cubren parcialmente el núcleo. Los basófilos encontrados fueron muy escasos.

Linfocitos: células de un tamaño de 18.69 micras. Son células redondas pero pueden mostrar algunas irregularidades como pequeñas proyecciones. Poseen un núcleo grande redondo de color morado, la cromatina nuclear se presenta en forma agregada, densa o reticular. El citoplasma es escaso, en algunas células es prácticamente un halo, es basófilo y a veces presentan pequeñas granulaciones en su interior.

Monocitos: célula de forma irregular. Presenta núcleo redondo o ligeramente irregular con cromatina reticular y excéntrica. El citoplasma es abundante y se tiñe de color azul-grisáceo con una apariencia granular fina, ocasionalmente contiene vacuolas. Los monocitos encontrados fueron muy escasos.

Trombocitos: células redondas o ligeramente ovaladas de un tamaño promedio de 6.37 micras. Presentan un núcleo grande redondo a ovalado con cromatina nuclear densa de color morado oscuro. El citoplasma es claro, homogéneo y en la mayoría de los casos es casi invisible. La tendencia a formar agregados (grumos) se presenta con frecuencia.

En el cuadro No 1 y 2 se muestran los tamaños de las diferentes células sanguíneas obtenidas en el presente trabajo.

Cuadro No 1. Tamaño de los eritrocitos y núcleos de *Chelonia mydas* de vida libre del Parque Nacional Tortuguero.

Variable	n	Promedio		Desv. Estándar	Mínimo	Máximo	Coef. Variación	Mediana	Moda
Eritrocito	200								
Largo (µm)		18,20	±	1,48	15,00	22,00	0,08	18,00	18,00
Ancho (µm)		11,86	±	1,04	10,00	14,00	0,09	12,00	12,00
Núcleo	200								
Largo (µm)		5,02	±	0,43	3,00	6,00	0,09	5,00	5,00
Ancho (µm)		3,56	±	0,50	3,00	4,00	0,14	4,00	4,00

Cuadro No 2. Tamaño de los leucocitos de *Chelonia mydas* de vida libre del Parque Nacional Tortuguero.

Variable diámetro (µm)	n	Promedio		Desv. Estándar	Mínimo	Máximo	Coef. Variación	Mediana	Moda
Heterófilos	50	14,45	±	2,69	10,00	20,00	0,19	15,00	15,00
Eosinófilos	50	18,18	±	3,40	10,00	27,00	0,19	18,00	18,00
Linfocitos	50	18,69	±	2,80	10,00	24,00	0,15	19,00	20,00

Monocitos	50		±						
Plaquetas	50	6,37	±	1,18	4,00	9,00	0,19	6,00	6,00

3.2. Análisis sanguíneos

3.2.1. Hemograma

Las variables hematológicas evaluadas fueron el hematocrito, hemoglobina, CHCM y el leucograma. Los resultados de las estadísticas descriptivas obtenidos como lo son el promedio, desviación estándar, rango mínimo-máximo, coeficiente de

Variable	n	Promedio		Desv. Estándar	Mínimo	Máximo	Coef. Variación	Mediana	Moda
Hematocrito (%)	95	29,01	±	3,94	22,00	36,00	0,14	30,00	24,00
Hemoglobina (g/dl)	98	8,27	±	1,56	5,90	12,60	0,19	8,00	7,50
CHCM (g/dl)	88	28,05	±	3,23	22,00	37,00	0,12	28,00	29,00
C.de leucocitos (μl)	50	1469,28	±	652	463,00	2856,00	0,44	1276,50	
Heterófilos (μl)	50	1090,00	±	541,00	255,00	1900,00	0,50	993,00	
Eosinófilos (μl)	50	144,06	±	66,06	40,00	270,00	0,46	139,00	83,00
Linfocitos (μl)	50	337,00	±	274,25	43,00	914,00	0,81	284,00	43,00
Monocitos (μl)	50	8,21	±	18,03	0,00	57,00	2,20	0,00	0,00
Basófilos (μl)	50	1,50	±	5,61	0,00	21,00	3,74	0,00	0,00

variación, mediana y moda se presentan en el Cuadro No 3.

Cuadro No. 3 Valores hematológicos de *Chelonia mydas* de vida libre del Parque

Nacional Tortuguero.

3.2.2. Análisis Bioquímicos.

Los metabolitos séricos se evaluaron en una muestra de un mínimo de 80 tortugas, con excepción del ácido úrico (n=20), el calcio (n=56) y el hierro (n=65), la causa obedeció a cantidad insuficiente de suero o hemólisis. El aspecto en general del suero fue de incoloro a amarillo muy claro.

Los resultados de los estadísticos descriptivos de las diferentes variables bioquímicas evaluadas se presentan en el Cuadro No 4.

Cuadro No. 4. Valores de química sanguínea de *Chelonia mydas* de vida libre del Parque Nacional Tortuguero.

Variables	N	Promedio		Desv. Estándar	Mínimo	Máximo	Coef. Variación	Mediana	Moda
Proteínas totales (g/dl)	84	3,52	±	0,61	2,4	5	0,17	3,55	3,7
Albúmina (g/dl)	82	0,59	±	0,21	0,3	1,2	0,35	0,6	0,4
Globulinas (g/dl)	80	2,94	±	0,49	2,1	4,1	0,17	2,9	3,5
Glucosa (mg/dl)	86	75,5	±	16,17	42	112	0,21	75	81
N.Ureico (mg/dl)	85	4,71	±	2,3	2	11	0,49	4	3
Creatinina (mg/dl)	80	0,49	±	0,21	0,2	1,3	0,43	0,45	0,5
Acido úrico (mg/dl)	20	0,47	±	0,2	0,2	0,9	0,43	0,4	0,4
Colesterol (mg/dl)	87	208,02	±	59,44	85	348	0,29	206,5	196
Triglicéridos (mg/dl)	85	535,42	±	302,39	74	1060	0,56	569	773
Bilirrubina total (mg/dl)	93	0,3	±	0,2	0,1	1	0,67	0,2	0,2
SAP (IU/L)	90	8,33	±	3,65	2	20	0,44	8	8
AST (IU/L)	81	45,56	±	25,56	15	106	0,56	41	17
ALT (IU/L)	89	4,12	±	2,4	0	18	0,58	4	4
LD (IU/L)	85	131,88	±	127,1	9	602	0,96	98	51
Calcio (mg/dl)	56	9,41	±	2,85	3,1	15,6	0,3	9	11,3
Fósforo (mg/dl)	80	6,2	±	1,73	2,8	9,6	0,28	6,4	6,4
Magnesio (mg/dl)	80	6,29	±	1,59	0,9	9	0,25	6,4	9
Hierro (ug/dl)	65	187,41	±	134,41	33	511	0,72	130	130
Cloro (mmol/L)	91	106,39	±	9,21	81,8	134,4	0,09	107,8	108,9
Sodio (mmol/L)	90	138,55	±	11,61	102,8	153,5	0,08	142,25	147,2
Potasio (mmol/L)	89	3,43	±	0,49	2,35	4,94	0,14	3,33	3,29

4. DISCUSIÓN

La identificación de los 7 tipos de células sanguíneas concuerda con lo reportado por Samour et al., (1998) con la excepción que no se identificaron azurófilos. La célula blanca que predominó fueron los heterófilos, seguida de los linfocitos. El hallazgo de monocitos y basófilos fue muy escaso, lo cual ha sido reportado en otros estudios (Wood y Ebanks, 1984).

La clasificación e identificación de las células sanguíneas en reptiles presenta ciertas inconsistencias debido a la variación en los criterios utilizados, la cual a su vez depende de las tinciones y métodos utilizados como son la microscopía de luz, microscopía electrónica, histoquímica y tinciones de Romanosky. Así, el estudio de Saint Gironi reportó 9 tipos de células a saber: eritrocitos, heterófilos, basófilos, eosinófilos, azurófilos, linfocitos, monocitos, células plasmáticas y trombocitos. Wood y Ebanks (1984) identificaron 6 tipos de células: eritrocitos, heterófilos, basófilos, eosinófilos, linfocitos y trombocitos. Samour et al., (1998) describe: heterófilos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, linfocitos. Work et al., (1998) reporta eritrocitos, heterófilos, basófilos, 2 tipos de eosinófilos (grandes y pequeños), azurófilos, linfocitos, monocitos y trombocitos. Cabe mencionar que el neutrófilo no se encuentra claramente identificado en reptiles, se habla del heterófilo el cual tiene funciones semejantes a las del neutrófilo en mamíferos.

La morfología de las células sanguíneas en cuanto a los aspectos de color, tamaño y presencia de granulaciones fue muy semejante a la reportada por Samour et al., (1998) y Wood y Ebanks (1984), el tamaño promedio de las células sanguíneas obtenido se encuentran dentro de los rangos reportados por dichos autores. En anexos, Cuadro No 5 y 6 se muestran los diferentes tamaños de las células por diferentes autores.

En cuanto a los valores hematológicos y bioquímicos obtenidos se muestra una variabilidad lo cual es esperado entre individuos, en algunas variables la dispersión fue mayor lo cual está asociado a la metodología empleada y al mismo metabolito en sí.

Comparar los resultados de variables sanguíneas entre diferentes estudios no es recomendable por las diferencias que existen en cuanto a la metodología analítica empleada, las características de la población, la localización geográfica, ambiente, manejo, equipo, recolecta de sangre, sin embargo, como este estudio es uno de los primeros que se realizan en nuestro país, no se cuenta con una base de datos de similares condiciones, por lo tanto, se utilizó estudios de otros países. Los datos hematológicos obtenidos en el presente estudio se compararon con los resultados de un trabajo realizado en una población de tortugas hembras de vida libre en Emiratos Árabes Unidos (Samour et al., 1998) y se puede observar que los valores promedios del hematocrito, hemoglobina, CHCM, cómputo de leucocitos, heterófilos, eosinófilos, linfocitos, monocitos y basófilos se encuentran dentro del rango reportado por dicho autor, excepto los eosinófilos. Así mismo los valores obtenidos se compararon con un estudio realizado en tortugas juveniles de vida libre en Hawai (Work et al., 1998) y otro de tortugas adultas en cautiverio en las Islas Gran Caimán (Wood y Ebanks, 1984), en este caso los valores difieren en mayor grado lo cual se puede asociar a la diferencia de edades y condiciones de manejo. En anexos, cuadro N° 7 se presentan los valores hematológicos del presente estudio y de otros autores.

En cuanto a los metabolitos químicos los valores se compararon con los resultados de un estudio en tortugas adultas de vida libre en Emiratos Arabes (Hasbún et al., 1998), los valores promedios de los metabolitos obtenidos en el presente estudio se encuentran dentro de los rangos del estudio citado, excepto para las proteínas totales, albúmina, SAP, AST, magnesio y potasio que son inferiores y el hierro que la

concentración fue superior. También los valores se compararon con otros estudios uno de ellos fue el realizado en tortugas verdes juveniles de vida libre en las Bahamas (Bolten y Bjorndal, 1992) y en tortugas juveniles de vida libre en Hawaii, (Aguirre y Balazs, 2000), los valores muestran semejanza a pesar de ser tortugas de diferente edad.

Algunas causas de variación en las concentraciones de proteínas totales, albúmina, glucosa, nitrógeno ureico, ácido úrico, fósforo, sodio y potasio, se podrían asociar a la condición de desove, según Hasbún et al., (1998) los bajos resultados de niveles de calcio en hembras comparado con machos y juveniles pueden ser atribuido al proceso de formación del huevo.

Considerando que en los mamíferos el periodo productivo demanda grandes cantidades de proteínas y energía, además las tortugas al migrar recorren grandes distancias que podrían alterar su metabolismo energético y la disponibilidad de alimento. Los valores altos de hierro indican buen estado de salud ya que los valores inferiores se asocian a condiciones inflamatorias o estrés (Aguirre et al., 1995). En anexos, cuadro N° 8 se muestran los datos obtenidos y los de otros autores.

Otros aspectos a considerar que pueden influir en los resultados son con respecto a la colecta de las muestras de sangre. La sangre obtenida de la vena braquial o de la región postoccipital dorsal se puede contaminar con linfa y presentar valores bajos de hematocrito, hemoglobina y leucocitos (Gottdenker y Jacobson, 1995).

Los reptiles incluyendo a las quelonias tienen un muy desarrollado el sistema linfático, el cual lleva su curso adyacente al sistema venoso. Por ello a veces se obtiene un liquido claro y libre de células de las venopunciones que representa sangre con linfa, y esto produce que se de una dilución de la sangre.

Este problema se presenta en especial cuando se sangran venas que no se pueden visualizar y por lo tanto pueden encontrarse valores bajos de proteínas, albúmina, globulinas, ALP, AST, ALT (Gottdenker y Jacobson, 1995).

El tipo de muestreo por conveniencia y la índole del estudio no permiten brindar información individual, por lo tanto factores causantes de la variabilidad de los valores entre sí, pueden estar relacionados a la edad, dieta, recorrido de la travesía, estrés, número de desoves y otros.

Algunos autores recomiendan el uso de plasma en vez de suero para las determinaciones bioquímicas, cuya justificación radica en que no se obtiene una cantidad suficiente de suero, sin embargo en el presente trabajo el proceso de coagulación y retracción fue adecuado, en parte porque el tiempo de separación fue más prolongado que otros estudios, lo cual no deja de ser un problema porque podría influir en alteraciones en especial de las enzimas.

La caracterización de las células sanguíneas, los valores hematológicos y de química sérica constituyen los primeros valores referenciales de una población de tortuga verde (*Chelonia mydas*) de vida libre durante el período del desove en la costa del Caribe en Costa Rica.

Los valores obtenidos son de gran valor para futuras investigaciones en programas de conservación, además constituyen una guía para el manejo clínico y diagnóstico de los animales que por algún motivo ya sea médico, de investigación o en centros de rescate sean mantenidos en cautiverio, dichos ejemplares son más propensos a contraer enfermedades.

Los presentes resultados obtenidos representan valores hematológicos y bioquímicos de un grupo de hembras adultas de tortugas marinas de una población particular y durante un período específico del año.

5. CONCLUSIONES

- * El presente trabajo permite contar con el perfil hematológico y bioquímico de una población de tortugas marinas (*Chelonia mydas*), hembras, adultas de vida libre, que desovan en el Parque Nacional Tortuguero. Estudios en la tortuga

verde desde el punto de vista biológico y médico son pocos, la presente investigación es pionera a nivel nacional y de la región centroamericana.

- * La base de datos es una guía referencial preliminar de las diferentes variables sanguíneas de la tortuga verde de vida libre en Costa Rica, es un material bibliográfico de gran relevancia en el campo médico veterinario de la vida silvestre que ayuda en la valoración más adecuada del diagnóstico clínico y tratamiento, como también será de aplicabilidad en investigaciones que se realicen en torno al ciclo de vida de estos animales y su entorno.

- * Al comparar los datos obtenidos del presente estudio con datos de diferentes autores en otras latitudes, hay que tener muy en cuenta, que la mayoría de las veces, en este tipo de investigación los métodos utilizados así como la población animal investigada difieren mucho, por lo tanto los presentes datos son de suma importancia ya que permite contar con una base de datos en condiciones de nuestro país y áreas cercanas, pero a la vez es de suma importancia que se continúe con este tipo de investigación y por ende con proyectos similares para así poder comparar y mejorar cada vez mas esta base de datos referencial.

- * La importancia clínica de examinar un frotis sanguíneo es altamente reconocida. El conocimiento obtenido sobre la morfología sanguínea permite una valoración del frotis sanguíneo en cuanto a variaciones celulares, forma, color y tamaño celular y esta información es de gran importancia para un adecuado diagnóstico clínico del paciente.

- * El banco de sueros obtenidos es con el fin de dejar a disponibilidad las muestras, para posteriores estudios que puedan ser de utilidad en la búsqueda de anticuerpos para diferentes enfermedades microbiológicas y parasitarias u otros fines.

5.1 Recomendaciones

- * Realizar la separación del suero en un tiempo no mayor a 1 hora para evitar alteraciones en los metabolitos.
- * Realizar frotis sanguíneo inmediatamente post toma de la muestra o en un período no mayor a 4 horas.

- * Si a la hora de la venopunción se observa un líquido turbio blancuzco (semejante a la linfa) se recomienda realizar de nuevo la extracción y descartar la primera muestra.
- * A la hora de cuantificar, clasificar y comparar células sanguíneas se deben utilizar métodos iguales o parecidos a otros estudios antes reportados para no tener confusiones y una mejor descripción.
- * Siempre que se va a trabajar con este tipo de animal (tortuga marina) hay que recordar que casi exclusivamente estas salen a tierra con el fin de depositar sus huevos y por lo tanto es muy importante no interferir en este proceso. Lo mejor es buscar el momento idóneo que casi siempre es exactamente durante la ovoposición en el cual el animal se encuentra relajado o más bien muy dedicado y por lo tanto hay oportunidad de trabajar. Antes o después de este momento sería interferir en su labor.
- * Hay que recordar que aunque se vean inofensivas las tortugas verdes marinas son animales silvestres bastante pesadas y fuertes que pocas veces o ninguna vez han tenido contacto con humanos por lo tanto en ciertas ocasiones reaccionan de manera fuerte o violentamente con el fin de escapar, provocando heridas a los investigadores de un aletazo o mordisco.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre, A.A. & G.H. Balazs. 2000. Blood Biochemistry Values of Green Turtle, *Chelonia mydas*, with and without Fibropapillomatosis. *Comp. Haematol. Int.* 10: 132- 137.

Bjorndal, K. 1997. Foraging Ecology and Nutrition of Sea Turtle. p. 99-231. *In* P. Lutz &

J.A. Musick. *The Biology of the Sea Turtle*. CRC Press. Wash. D.C, U.S.A.

Bjorndal, K. 1999. Management and Conservation Goals for Sea Turtles. Department

Wildlife Ecology and Conservation Institute of Food and Agricultural Sciences
University of Florida. Gainesville, Florida, U.S.A.

Bjorndal, K.A. & A. Carr. 1989. Variation in clutch size and egg size in the green sea turtle nesting population at Tortuguero, Costa Rica. *Herpetologica*. 45(2): 181-189.

Bolten, A.B. & K.A. Bjorndal. 1992. Blood Profiles for a Wild Population of Green Turtles (*Chelonia mydas*) in the Southern Bahamas: Size-Specific and Sex-Specific Relationship. *Journal of Wildlife Diseases*. 28(3): 407-415.

Bush, B. 1999. Interpretación de los análisis de laboratorio para clínicos de pequeños animales. Ediciones Harcourt S.A. Madrid, España.

Carr, A., M. Carr & A. Meylan. 1990. Ecología y migración de las tortugas marinas. Colonia de tortuga verde en el Caribe occidental. Caribbean Conservation Corporation, Gainesville, U.S.A.

CCC (Caribbean Conservation Corporation). 2002. Tortugas Marinas Guía Educativa. 2^a

ed. Caribbean Conservation Corporation, U.S.A.

Chacón D. & R. Aráuz. 2001. Diagnóstico Regional y Planificación Estratégica para la

conservación de las Tortugas marinas en Centroamérica. Red regional para la Conservación de las Tortugas marinas en Centroamérica. San José, Costa Rica.

Chacón, D., N. Valerín, & M.V. Cajiao. 2001. Manual para mejores prácticas de

Conservación de las tortugas marinas en Centroamérica. Red Regional para la Conservación de las Tortugas marinas en Centroamérica. San José, Costa Rica.

Chaves, A. 1989. Programa de Marcación de la Tortuga Verde, *Chelonia mydas*, en playa Tortuguero, Costa Rica. 1989. Caribbean Conservation Corporation, Costa Rica.

Davidson, M., R.& Else., J. Lumsden. 2000. Manual de patología clínica en pequeños

animales. Ediciones Harcourt S.A. Madrid, España.

Engstrom, T. 1994. Reporte de Programa de Investigación, temporada Tortuga Verde

Tortuguero, Costa Rica. 1994. Caribbean Conservation Corporation, Costa Rica.

Figueroa, A. 1991. Informe preliminar del Programa de Marcaje de la Tortuga Verde

(*Chelonia mydas*) en playa Tortuguero, Costa Rica. 1990. Caribbean Conservation Corporation, Costa Rica.

Fitz Simmons, N., C. Moritz, & B.W. Bowen. 1999. Population identification. p. 72-179.

In K.L. Eckert et al. Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication, U.S.A.

Frair, W. 1977. Turtle red blood cell packed volumes, sizes, and numbers. *Herpetologica*. 33(2): 167-190.

Fraser, D. 1987. Calcium and phosphate metabolism. p. 1010-1011. *In* Tietz, N. W. Fundamentals of clinical chemistry. W. B. Saunders Co. Philadelphia, Pennsylvania. USA.

Frazier, N.B. 1999. Management and Conservation Goals for Sea Turtles. Department of Wildlife Ecology and Conservation Institute of Food and Agricultural Sciences University of Florida. Gainesville, Florida, U.S.A.

Gottdenker, N.L., & E.R Jacobson. 1995. Effect of venipuncture sites on hematologic and clinical biochemical values in desert tortoises (*Gopherus agassizii*). Am. J. Vet. Res.

56 (1).

Harvey, J. W. 2001. Atlas of veterinary hematology. W. B. Saunders Co. Philadelphia,

Pennsylvania. USA.

Hawkey, C. M., & Dennett, T. B. 1989. Color Atlas of Comparative Veterinary Hematology. Iowa State University Press, U.S.A.

Herbst, L.H. 1999. Infectious diseases of marine turtles. p. 208-213. In K.L. Eckert et al.,

Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles.

IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication, U.S.A.

Jackson, J. & K. Bjorndal. 2001. Ancient fishing linked to modern crisis. Science. 293:

5530.

Jain, Nemi C. 1986. Schalm's veterinary hematology. 4 de. Lea and Febiger. Philadelphia

Pennsylvania. USA.

Kaneko, Jiro. ; J. W. Harvey & M. Bruss. 1997. Clinical biochemistry of domestic animals. 5.ed. Academic Press Inc. London. United Kingdom.

Lagueux, C. 1998. Marine turtle fishery of Caribbean Nicaragua: Human Use Patterns and

Harvest Trends. A dissertation presented to the graduate school of the University of

Florida in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy. University of Florida, U.S.A.

Lutz, P.L. & J.A. Musick. 1996. The Biology of Sea Turtles. CRC Marine Science Series.

Lutz, P.L., J.A. Musick, & J. Wyneken. 2003. Practical Approaches for Studying Sea

Turtle Health and Disease. p. 399-400. *In* The Biology of Sea Turtles. Vol. # 2. CRC

Press, Boca Ratón, U.S.A.

Mendenhall, W., R.J. Beaver, & B.M. Beaver.2002. Introducción a la probabilidad y estadística. International Thomson Editores, S.A. C.V, México.

Meneses, A.I, J.E. Villalobos, & E. Sancho. 1993. Manual de Hematología y Química

Clínica en Medicina Veterinaria. Editorial Fundación UNA. Heredia, Costa Rica.

National Marine Fisheries and U.S. Fish and Wildlife Service. 1998. Recovery Plan for

U.S. Pacific Population of the Green Turtle (*Chelonia mydas*). National Marine Fisheries Service. Silver Spring, Md, U.S.A.

Owens, D.W. 1999. Reproductive cycles and endocrinology. p. 119-123. In K.L. Eckert et

al., Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication, U.S.A.

Owens, D.W., & G.J., Ruiz. 1980. New Methods of obtaining blood and cerebrospinal

fluid from Marine Turtle. *Herpetologica*.36 (1): 17-20.

Payne, J.M., & S. Payne. 1987. The metabolic profile test. Oxford University Press. New

York, USA.

Romero, F. L. 1984. Metabolic profiles – blood parameters of protein and energy metabolism. Instituto superior de ciencias agropecuarias. Habana, Cuba.

Saint Girons, M.C. & Saint Girons H. 1969. Contribution a la morphologie compare des

erythrocytes chez les reptiles. *British J. Herpetol.* 4 :67-82.

Sirois, M. 1995. Veterinary clinical laboratory procedures. Mosby. USA.

Troëng, S. 1997. Report on the 1997 Green Turtle Program at Tortuguero, Costa Rica.

1997. Caribbean Conservation Corporation, U.S.A.

Topps, J. H., & J. K. Thompson. 1984. Blood characteristics and the nutrition of ruminants.

Department of agriculture and fisheries for Scotland. London, United Kingdom.

Valverde, R. 1997. Reporte de la Temporada de Desove de la Tortuga Verde en

Tortuguero, Costa Rica, 1996. Caribbean Conservation Corporation, Costa Rica.

Voigt, Gregg L. 2000. Hematology techniques and concepts for veterinary technicians.

Iowa State University Press. Ames, Iowa. USA.

Wibbels, T. 1999. Diagnosing the sex of sea turtle in foraging habitats. p. 139-143.

In

K.L. Eckert et al., Research and Management Techniques for the Conservation of Sea

Turtles. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication, U.S.A.

Willard, M. D., H. Tvedten., G. H. Turnwald. 1989. Small animal clinical diagnosis
by

laboratory methods. W. B. Saunders Co. Philadelphia, Pennsylvania. USA.

Wood, F.E. & G.K. Ebanks. 1984. Blood cytology and hematology of the green sea
turtle,

Chelonia mydas. Herpetologica 40(3): 331-336.

Work, T.M., R.E. Raskin, G.H. Balazs, & S.D. Whittaker. 1998. Morphologic and
cytochemical characteristics of blood cells from Hawaiian green turtle. AJVR.
59:

1252-1257.

Wyneken, J. 2001. The Anatomy of Sea Turtles. U.S. Department of Commerce
NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470, 1-172 pp. U.S.A.

7. ANEXOS

Cuadro No 5. Tamaño de los eritrocitos y núcleos de *Chelonia mydas* por diferentes autores.

	Redondo (2007)		Samour et al. (1998)			Work et al. (1998)	
	n	Largo (μm)	Ancho (μm)	n	Largo (μm)	Ancho (μm)	n Largo (μm)
Eritrocito	200	$18,20 \pm 1,48$ (15-22)	$11,86 \pm 1,04$ (10-14)	100	$19,08 \pm 1,32$ (15-22)	$12,6 \pm 11,23$ (10-15)	26 (17-20)
Núcleo	200	$5,02 \pm 0,43$ (3-6)	$3,56 \pm 0,50$ (3-4)	100	$5,87 \pm 0,76$ (4-7)	$4,97 \pm 0,73$ (3-7)	
Promedio \pm DV (min-max)							

Cuadro No. 6. Tamaño de los leucocitos de *Chelonia mydas* por diferentes autores.

	Redondo (2007)		Samour et al. (1998)		Wood & Ebanks (1984)		Work et al. (1998)	
	n	Diámetro (μm)	N	Dámetro (μm)	n	Diámetro (μm)	n	Diámetro (μm)

Heterófilos	50	14,45 ± 2,69 (10-20)	100	15,24 ± 0,09 (12-17)	23	17,0 ± 3,1 (10,2- 25,6)	26 (10-18)
Eosinófilos	50	18,18 ± 3,40 (10-27)	100	20,18 ± 0,19 (15-25)	23	13,4 ± 2,2 (7,7- 19,2)	26 (14-22)
Linfocitos	50	18,69 ± 2,80 (10-24)	100	11,51 ± 0,09 (9-14)	23	11,3 ± 2,7 (6,4- 20,5)	26 (6-14)
Monocitos			50	14,69 ± 0,35 (11-21)			26 (11-26)
Plaquetas	50	6,37 ± 1,18 (4-9)	100	10,8 ± 0,28 (6-14)	23	5,9 ± 0,9 (3,8- 6,4)	26 (9-12)
<hr/>							
Promedio ± DV (min-max)							

Cuadro No 7. Valores hematológicos de *Chelonia mydas* por diferentes autores.

		Redondo (2007)		Samour et al. (1998)		Work et al. (1998)		Wood & Ebanks (1984)
	n		n		n		n	
Hematocrito (%)	95	29,01 ± 3,94 (22-36)	25	34,5 ± 1,25 (22-52)			13	45 ± 7 (33-62)

Hemoglobina (g/dl)	98	8,27 ± 1,56 (5,9-12,6)	25	9,4 ± 0,3 (5,3- 12,4)			35	10,6 ± 1,2 (7,5- 12,5)
CHCM (g/dl)	88	28,05 ± 3,23 (22-37)	25	27,4 ± 0,7 (20-32,5)				
Computo de leucocitos (μl)	50	1469,28 ± 652 (463-2856)	25	1880 ± 200 (200-4300)	26	13800 ± 5300 (5900-23600)	28	3200 ± 500 (2000-3900)
Heterófilos (μl)	50	1090 ± 541 (255-1900)	25	1090 ± 120 (110-2840)	26	1400 ± 800 (300-3200)	20	
Eosinófilos (μl)	50	144,06 ± 66,06 (40-270)	25	300 ± 60 (0-126)	26	1700 ± 600 (700-3200)	20	
Linfocitos (μl)	50	337 ± 274,25 (43-914)	25	410 ± 50 (200-870)	26	1000 ± 4300 (3600-18600)	20	
Monocitos (μl)	50	8,21 ± 18,03 (0-57)	25	50 ± 10 (0-130)	26	800 ± 500 (100-1900)		
Basófilos (μl)	50	1,50 ± 5,61 (0-21)	25	8 ± 3 (0-78)	26	0 ± 0 (0-100)	20	

Variables	Redondo (2007)		Aguirre & Balazs (2000)		Hasbun et al. (1998)		Bolten & Bjorndal (1992)	
	n		n		n		n	
Proteínas totales (g/dl)	84	3,52 ± 0,61 (2,4-5)	53	4,2 ± 0,6 (2,9-5,6)	17	5,73 ± 0,55 (4,7-6,8)	100	5,1 ± 0,8 (2,6-6,9)
Albúmina (g/dl)	82	0,59 ± 0,21 (0,3-1,2)	53	1,7 ± 0,4 (0,6-2,2)	11	1,91 ± 0,32 (1,5-2,5)	100	1,5 ± 0,2 (0,6-2,1)
Globulinas (g/dl)	80	2,94 ± 0,49 (2,1-4,1)	53	2,7 ± 0,5 (1,8-4,0)			100	3,6 ± 0,7 (1,9-5,2)
Glucosa (mg/dl)	86	75,5 ± 16,17 (42-112)	53	114,7 ± 35,0 (64-234)			100	114 ± 15 (87-167)
N.Ureico (mg/dl)	85	4,71 ± 2,3 (2-11)	53	5,2 ± 14,1 (0,0-64,0)	18	12,28 ± 9,53 (1-42)	100	7 ± 5 (2-37)
Creatinina (mg/dl)	80	0,49 ± 0,21 (0,2-1,3)	53	0,2 ± 0,1 (0,1-0,5)	16	0,43 ± 0,11 (0,26-0,64)	100	0,5 ± 0,1 (0,3-0,9)
Acido urico (mg/dl)	20	0,47 ± 0,2 (0,2-0,9)	53	1,3 ± 0,8 (0,0-4,5)			100	1,5 ± 0,6 (0,5-3,5)
Colesterol (mg/dl)	87	208,02 ± 59,44 (85-348)	53	140 ± 43 (32-280)	13	226 ± 123,06 (110-519)	100	217 ± 53 (73-365)
Triglicéridos (mg/dl)	85	535,42 ± 302,39 (74-1060)	53	124,2 ± 68,7 (28-331)	13	433 ± 633,5 (55-2289)	100	172 ± 85 (43-413)
Bilirrubina total (mg/dl)	93	0,3 ± 0,2 (0,1-1)	53	0,2 ± 0,1 (0,0- 0,4)			100	0,1 ± 0,04 (0-0,3)
SAP (IU/L)	90	8,33 ± 3,65 (2-20)	53	33,5 ± 12,2 (12-62)	19	27,21 ± 9,65 (10-43)	100	43 ± 16 (13-95)
AST (IU/L)	81	45,56 ± 25,56 (15-106)	53	158 ± 41,5 (1,0-270)	18	153,5 ± 48,48 (65-243)	100	178 ± 50 (31-389)
ALT (IU/L)	89	4,12 ± 2,4 (0-18)	53	3,9 ± 7 (0,0-50,0)			100	6 ± 3 (1-17)
LD (IU/L)	85	131,88 ± 127,1 (9-602)	53	203,8 ± 180,4 (55-1286)	18	211,66 ± 139,39 (50-491)	100	135 ± 61 (48-342)
Calcio (mg/dl)	56	9,41 ± 2,85 (3,1-15,6)	53	9,1 ± 1,7 (1,1-12,1)	13	6,86 ± 3,0 (3-11)	100	9,1 ± 2,1 (1,6-12,2)
Fósforo (mg/dl)	80	6,2 ± 1,73 (2,8-9,6)	53	8,2 ± 1,3 (5,9-11,8)	14	8,06 ± 1,96 (3,3-11,7)	100	6,7 ± 1,2 (3,8-10,9)
Magnesio (mg/dl)	80	6,29 ± 1,59 (0,9-9)			12	7,6 ± 0,24 (7-7,96)		
Hierro (ug/dl)	65	187,41 ± 134,41 (33-511)	53	46,3 ± 64,8 (9-321)	12	77,75 ± 35,72 (50-163)	100	55 ± 15 (19-88)
Cloro (mmol/L)	91	106,39 ± 9,21 (81,8-134,4)	53	115,2 ± 5,7 (103-130)	9	93,78 ± 10,46 (79-105)	100	113 ± 5 (100-130)
Sodio (mmol/L)	90	138,55 ± 11,61 (102,8- 153,5)	53	158,0 ± 4,0 (146-170)	9	14,6 ± 5,4 (135-153)	100	172 ± 5 (157-183)
Potasio (mmol/L)	89	3,43 ± 0,49 (2,35-4,94)	53	5,2 ± 0,9 (3,9-8,6)	9	6,61 ± 2,22 (4,5-10,9)	100	5,3 ± 0,6 (4,1-6,9)

Cuadro No 8. Valores de química sanguínea de *Chelonia mydas* por diferentes autores.

Características de la especie *Chelonia mydas*

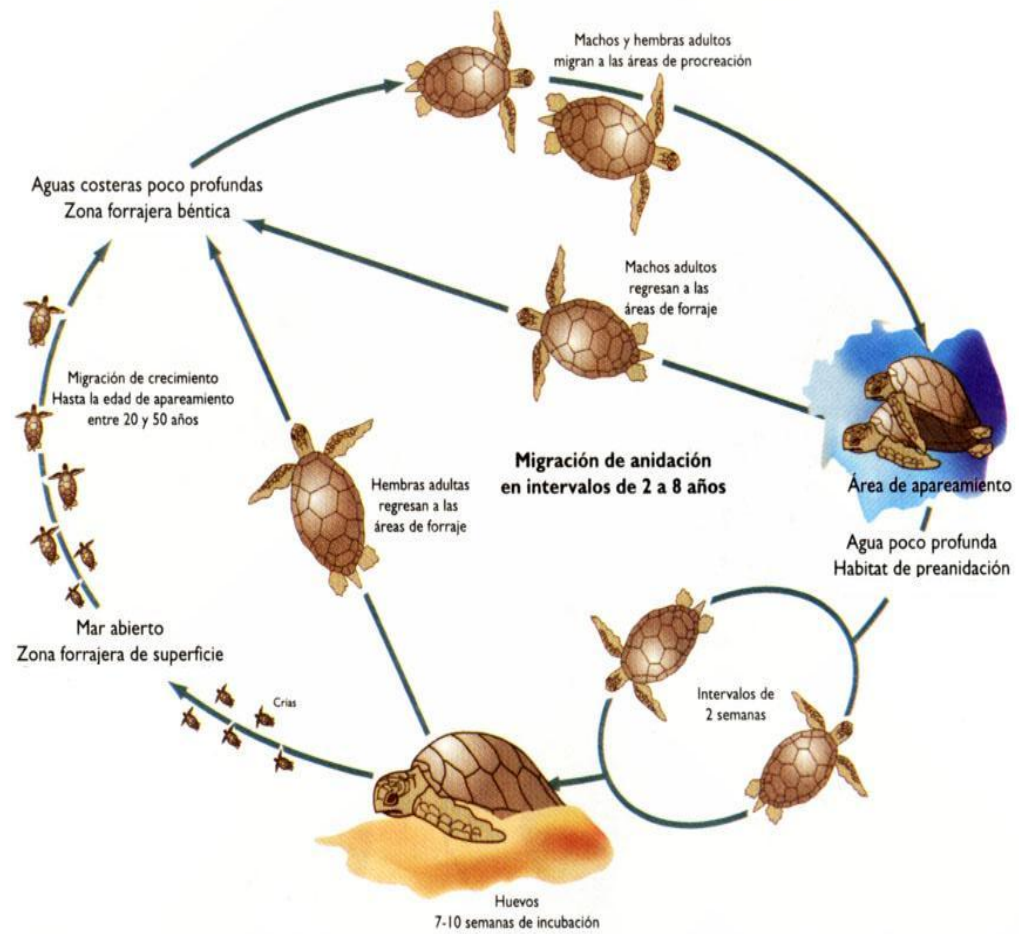
Espece	Verde/Blanca
	<i>Chelonia mydas</i>
Longitud promedio	99 cm
Frecuencia de reanidación	3 veces/temporada o más
Intervalo de reanidación	12 días
Remigración	2-3 años o más
Tamaño nidada promedio	112 huevos/nido
Tamaño de huellas	100-130 cm
Simetría de huella	Simétrica
Litoral Caribe	junio a octubre
Temperatura pivotal	28.6 °C
Características generales	Caparazón ovalado Coloración variable Cuatro escudos laterales en caparazón Longitud máxima del caparazón 120 cm Un par de escamas prefrontales
Tiempo de incubación	48-70 días

Figura 1. Características de la especie *Chelonia mydas* (Chacón et al., 2001).

Rutas hipotéticas de migración para la tortuga verde, basado en datos de Carr, Carr y Meylan (1990).



Figura 2. Rutas hipotéticas de migración para la tortuga verde (Carr et al., 1990).



Ciclo de vida genérico de las tortugas marinas (cambia para algunas especies), basado en Lutz y Musick (1996).

Figura 3. Ciclo de vida genérico de las tortugas marinas (Lutz y Musick, 1996).

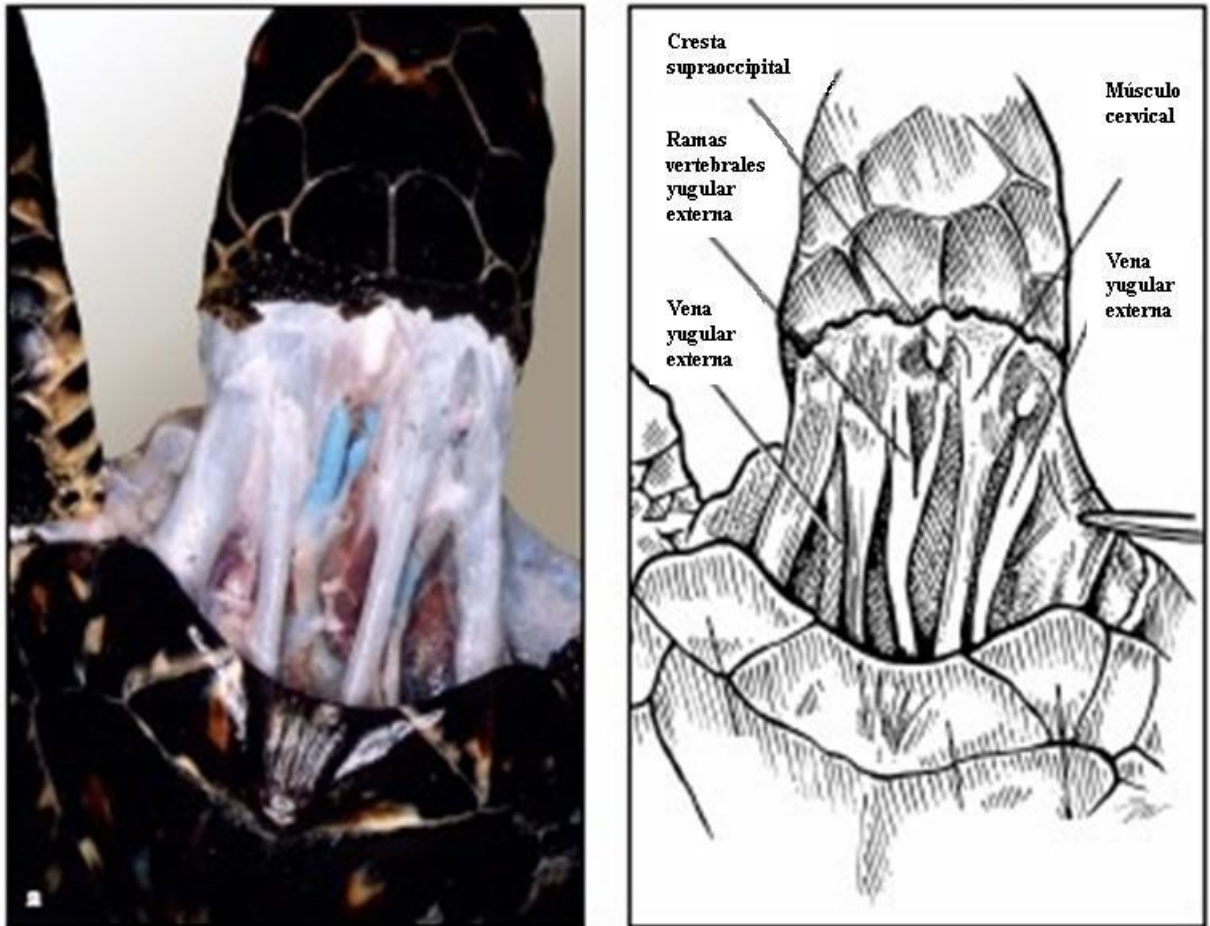


Figura 4. Vista dorsal de la vena yugular externa y de la vena vertebral (Wyneken, 2001).



Figura 5. Fotografía de la técnica empleada para el sangrado.