

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

Determinación de valores referenciales de hematología y química plasmática en una población de perezosos de las especies *Choloepus hoffmanni* y *Bradypus variegatus* de vida libre en la zona de San José de Upala, Alajuela.

Modalidad: Tesis

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

Isabel Hagnauer Barrantes

Campus Presbítero Benjamín Núñez
2012

TRIBUNAL EXAMINADOR

M.Sc. María Antonieta Corrales
Decana
Facultad de Ciencias de la Salud

Dra. Laura Castro Ramírez
Directora
Escuela de Medicina Veterinaria

Dr. Mauricio Jiménez Soto
Tutor

Dra. Ana Meneses Guevara
Lectora

Dra. Nancy Astorga Miranda
Lectora

Fecha _____

DEDICATORIA

A mis papás y hermanos que me han dado todo el apoyo a pesar de todo el tiempo lejos de ellos.

A mis abuelitos, Lilly† y Werner, quienes me inspiraron a estudiar esta carrera por su amor y vocación por la fauna costarricense.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Mauricio Jiménez, quien siempre ha creído en mí y me ha apoyado a lo largo de todos estos años.

A la Dra. Ana Meneses, Dra. Laura Bouza, don Olman del Laboratorio de Análisis Clínicos, al Dr. Juan José Romero y a Giovanni Herrera por su colaboración en la elaboración de este estudio.

A Nancy, Mauricio, José, Ericka, Tahiana y Karen.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

TRIBUNAL EXAMINADOR	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
INDICE DE CONTENIDOS	v
INDICE DE CUADROS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUCCION	1
1.1. Antecedentes	1
1.2. Justificación	5
<i>1.2.1. Hipótesis</i>	5
1.3. Objetivos	6
<i>1.3.1. Objetivo general</i>	6
<i>1.3.2. Objetivos específicos</i>	6
2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS	7
2.1. Periodo y lugar de estudio	7
2.2. Población de estudio	7
<i>2.2.1. Distribución de la población</i>	8
2.3. Captura y liberación de los animales	8
2.4. Recolección de muestras de sangre y su procesamiento	9
<i>2.4.1 Hematología</i>	9
<i>2.4.2. Química plasmática</i>	11

2.5. Diseño estadístico	12
3. RESULTADOS	13
4. DISCUSIÓN	19
5. CONCLUSIONES	22
6. RECOMENDACIONES	23
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Valores de hematología obtenidos para <i>C. hoffmanni</i>	13
Cuadro 2. Valores de hematología obtenidos para <i>B. variegatus</i>	14
Cuadro 3. Rangos de referencia para la hematología de ambas especies de perezosos.	15
Cuadro 4. Valores de química plasmática para <i>C. hoffmanni</i>	16
Cuadro 5. Valores de química plasmática para <i>B. variegatus</i>	17
Cuadro 6. Rangos referenciales para la química plasmática de ambas especies.....	18

RESUMEN

Debido a la falta de información acerca de muchas especies silvestres, especialmente a las de la familia Xenarthra, se realizó un estudio sobre las variables hematológicas y de química plasmática de las especies *Choloepus hoffmanni* y *Bradypus variegatus* de vida libre en la zona norte de Costa Rica, entre los meses de marzo de 2009 a febrero de 2010. Se recolectaron muestras de sangre de individuos clínicamente sanos, 67 animales para la hematología: 40 individuos de *C. hoffmanni* (17 hembras, 18 machos, 5 no sexados; 11 juveniles, 29 adultos) y 27 individuos de *B. variegatus* (14 hembras, 11 machos, 2 no sexados; 2 juveniles, 25 adultos), mientras que para la química plasmática 58 muestras fueron procesadas, 33 para *C. hoffmanni* (17 hembras, 15 machos, 1 no sexado; 3 juveniles, 30 adultos) y para *B. variegatus* 25 individuos (15 hembras, 9 machos, 1 no sexado; 25 adultos). Las variables estadísticas media, desviación estándar, coeficiente de variación, mediana, mínimo y máximo fueron calculadas para 11 parámetros hematológicos y para 10 metabolitos plasmáticos. Algunos de los rangos de referencia establecidos fueron: hematocrito 31% - 38% para ambas especies, hemoglobina 8.6 - 10.5g/dl para *C. hoffmanni* y 9.0 - 11.4 g/dl para *B. variegatus*, mientras que el cómputo de leucocitos fue establecido en 4400.0 – 11450.0 μ l y 3550.0 - 8600.0 μ l, respectivamente. Las proteínas totales 6.1 - 7.5 g/dl y 6.7 - 8.0 g/dl, la glucosa 46 - 70mg/dl y 60 - 101 mg/dl, la AST 53 – 92 UI/L y 155 – 225 UI/L, para *C. hoffmanni* y *B. variegatus*. Se realizó una comparación entre los valores obtenidos para ambas especies.

ABSTRACT

Due to lack of information about many species of wildlife, especially the family Xenarthra, a study was conducted on hematological and plasma chemistry of the species *Bradypus variegatus* and *Choloepus hoffmanni* free living in the north of Costa Rica , throughout the months of march 2009 to February 2010 . We collected blood samples from clinically healthy individuals, 67 animals for hematology: 40 individuals of *C. hoffmanni* (17 females, 18 males, 5 unsexed, 11 juveniles, 29 adults) and 27 individuals of *B. variegatus* (14 females, 11 males, 2 unsexed; 2 juveniles, 25 adults), while for the chemical plasma samples were processed 58, 33 for *C. hoffmanni* (17 females, 15 males, 1 unsexed, 3 juveniles, 30 adults) and *B. variegatus* 25 individuals (15 females, 9 males, 1 unsexed, 25 adults). The mean, standard deviation, coefficient of variation, median, minimum and maximum were calculated for 11 hematological values and 10 plasma metabolites. Some of the established reference values were: haematocrit 31% - 38% for both species, haemoglobin 8.6 - 10.5g/dl for *C. hoffmanni* and 9.0 - 11.4 g/dl for *B. variegatus*, whereas the leucocyte count was set at 4400.0 – 11450.0 μ l and 3550.0 - 8600.0 μ l, respectively. Total proteins 6.1 - 7.5 g/dl and 6.7 - 8.0 g/dl, glucose 46 - 70mg/dl and 60 - 101 mg/dl, AST 53 – 92 UI/L and 155 – 225 UI/L, for *C. hoffmanni* and *B. variegatus*. We performed a comparison between the values obtained for both species.

1. INTRODUCCION

1.1. Antecedentes

Los perezosos son mamíferos del orden Xenarthra, clasificados en las familias Bradypodidae (*Bradypus variegatus*) y Megalonychidae (*Choloepus hoffmanni*) (Fowler y Cubas, 2001; Genoways y Timm, 2003). Los de la especie *B. variegatus* poseen un tamaño mediano, pelaje parduzco, grisáceo y áspero. Con respecto al aspecto poseen una cara “sonriente” con una trompa pequeña y oscura y una máscara negra a través de las orejas. Los machos poseen un parche pequeño anaranjado con una línea central negra o manchas negras sobre la parte media de la espalda. Otras características físicas son: una cola corta y las extremidades delanteras son más largas que las traseras. Los individuos de la especie *C. hoffmanni* cuentan con un pelaje largo y desgredado de color café cremoso sombreado. Además se caracterizan por una trompa bulbosa parecida a la del cerdo, no tienen cola, los miembros delanteros son más pequeños que los traseros y poseen dos garras en las extremidades delanteras y tres en las traseras (Carrillo *et al.*, 1999; Wainwright, 2002).

La distribución geográfica de *B. variegatus* y *C. hoffmanni* está restringida a Centro y Sudamérica (Deem y Fiorello, 2002). En Costa Rica poseen una distribución a lo largo de la vertiente del Caribe y del Pacífico (Carrillo *et al.*, 1999). No obstante algunos ejemplares de *Choloepus* spp. se han localizado en el Parque Nacional Braulio Carrillo a altitudes de 2400 m.s.n.m. y en el volcán Turrialba a una altura de 3328 m.s.n.m (Molina *et al.*, 1986; Gilmore *et al.*, 2001).

Actualmente los científicos se han interesado por la anatomía, fisiología y el comportamiento de los perezosos en aras de la conservación (Gilmore *et al.*, 2000; Gilmore *et al.*, 2001; Merritt, 1985; Pedrosa *et al.*, 2002; Urbani, 2006), pero muy pocos estudios se han realizado en relación con los aspectos clínicos de estas especies, entre ellos las valoraciones sanguíneas como el hemograma y la química sanguínea, que son herramientas colaterales de gran utilidad para el médico clínico.

Estudios previos reportan valores de hematología y química sanguínea para los perezosos *Choloepus* spp. y *Bradypus* spp. y con dos excepciones, todos los estudios se han limitado a un número pequeño de animales (Britton *et al.*, 1939; Marvin y Shook, 1963; Toole, 1972; Bush y Gilroy, 1979; Meritt, 1985; Medeiros *et al.*, 1993; Wallace y Oppenheim, 1996; Vogel *et al.*, 1999; Gilmore *et al.*, 2000). Además, solo tres de los estudios se refieren a *C. hoffmanni*, pero ninguno a animales de vida libre (Duran, 2005).

Marvin y Shook (1963), reportan que los perezosos de la especie *C. didactylus* cuentan con un valor de hemoglobina mayor que otras especies de mamíferos, pero el valor de hematocrito similar. Con respecto a la química sanguínea y comparando con 11 diferentes especies de mamíferos reportan mayores valores para el nitrógeno ureico, similares para el calcio, creatinina, potasio, fósforo y bicarbonato, así como valores menores para glucosa, sodio, cloro y yodo.

Toole (1972), reporta para cuatro *C. hoffmanni* y un *B. tridactylus* valores altos del colesterol, levemente bajos de la urea y los niveles de glucosa mostraron variaciones entre ellos.

Bush y Gilroy (1979), describen una técnica de sangrado mediante la punción de la vena femoral localizada con doppler ultrasonográfico en siete animales de la especie *C. didactylus*. Los animales fueron anestesiados para obtener la muestra de sangre y se obtuvieron los siguientes valores hematológicos: hematocrito 43%, hemoglobina 15.3%, conteo de leucocitos 19.332 ($10^3/\text{ul}$), proteínas totales 8 g/dl, entre otros.

Merrit (1985), colectó sangre de cuatro individuos de *C. hoffmanni*, el hematocrito promedio fue de 35%, los valores de hemoglobina oscilaron entre 11.7 y 13.6, para 3 de los individuos, el recuento de leucocitos fue de 13.4 a 21 ($10^3/\text{ul}$). El diferencial de leucocitos en porcentaje fue de: basófilos 1 a 3, eosinófilos 0 a 5, neutrófilos en banda 0 a 3, neutrófilos segmentados 40 a 49, linfocitos 40 a 49 y monocitos de 0 a 3.

Medeiros *et al.* (1993), tomó muestras sanguíneas de cuatro individuos de *B. variegatus*, donde determinó valores de hemoglobina de 11.06 ± 0.45 g/dl, hematocrito de $34.2 \pm 1.42\%$, cómputo de leucocitos de $12.46 \pm 1.02 \times 10^3/\text{ul}$, el diferencial fue $34.8 \pm 3.85\%$ de neutrófilos segmentados y de $56.4 \pm 3.44\%$ de linfocitos típicos.

Uno de los estudios más recientes es el realizado por Wallace y Oppenheim (1996), en el cual 29 individuos de *C. hoffmanni* en cautiverio fueron muestreados y se realizó una comparación de los valores obtenidos entre juveniles y adultos. La fosfatasa alcalina se encontró significativamente aumentada en las hembras juveniles en comparación con las adultas, además el colesterol se encontraba aumentado en las hembras juveniles cuando se comparaban con machos juveniles o con las hembras adultas. Los valores promedio de la química

sanguínea fueron: glucosa 61 mg/dl, nitrógeno ureico 16.7 mg/dl, creatinina 0.9 mg/dl, calcio 9.3 mg/dl, fosforo 4.6 mg/dl y proteínas totales 7.5 g/dl. En cuanto a la hematología, se reporta un hematocrito de 39.1%, hemoglobina de 12.8 g/dl, recuento de leucocitos de $15.7 \cdot 10^3/\mu\text{l}$, entre otros.

El estudio realizado en la Guyana Francesa por Vogel *et al.* (1999), es el que cuenta con un mayor número de individuos, 38 machos y 52 hembras de la especie *C. didactylus* de vida libre, algunos de los valores reportados incluyen: hematocrito 35.7%, hemoglobina 11.5%, recuento de leucocitos $18.6 \cdot 10^3/\text{mm}^3$, proteínas totales 85 g/L, glucosa 1.2 mmol/L, nitrógeno ureico 9.3 mmol/L y creatinina 84 $\mu\text{mol/L}$.

El único estudio realizado en Costa Rica, relacionado con variables hematológicas y bioquímicas, en las especies *C. hoffmanni* y *B. variegatus* es el realizado por Durán (2005). Los individuos de este estudio se encontraban en cautiverio en la zona del Caribe del país. Los valores reportados, para *B. variegatus*, fueron: hematocrito 35.5%, hemoglobina 10.8 g/dl y recuento de leucocitos $10 \cdot 135/\mu\text{l}$. Para *C. hoffmanni* se reporta: hematocrito 40.4%, hemoglobina 13.0 g/dl, recuento de leucocitos $17 \cdot 323.1/\mu\text{l}$. En cuanto a la química sanguínea los valores obtenidos en ambas especies fueron: proteínas totales 7.2 g/dl, 7.1 g/dl; glucosa 12.4 mg/dl, 11.9 mg/dl; nitrógeno ureico 16.8 mg/dl, 12.1 mg/dl; creatinina 0.8 mg/dl, 1.0 mg/dl, respectivamente.

En todos los estudios los animales muestreados eran clínicamente sanos y fueron anestesiados previo a la toma de la muestra.

1.2. Justificación

Dentro de la evaluación médico veterinaria de los animales silvestres tanto de vida libre como de cautiverio, la realización del hemograma y determinación de algunos metabolitos de química plasmática, representan una herramienta muy útil para determinar el estado de salud de los individuos y las poblaciones.

Sin embargo, para la correcta interpretación de los resultados de laboratorio se hace indispensable el poseer valores referenciales fisiológicos. La obtención de dichos valores es bastante compleja en medicina veterinaria, por la gran cantidad de especies existentes y se duplica cuando se trata de especies silvestres. La interpretación de los resultados presenta una serie de limitaciones, ya que estos se analizan con información contenida en valores referenciales de otras latitudes (Ettinger y Feldman, 2000). Costa Rica carece de información concerniente para la mayoría de las especies silvestres, entre ellos los perezosos de vida libre, y dada la importancia de contar con perfiles que reflejen los valores “normales”, se realizó el presente estudio dentro del marco de la investigación “*Theobroma cacao*: biodiversity in full and partial forest canopies” de la Universidad de Wisconsin, Estados Unidos.

1.2.1. Hipótesis

Los perezosos de las especies *Bradypus variegatus* y *Choloepus hoffmanni* de vida libre en la zona de San José de Upala, presentan diferencias significativas en las variables hematológicas y bioquímicas entre ambas especies.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Determinar los valores referenciales del hemograma y química plasmática en una población de perezosos de las especies *Choloepus hoffmanni* y *Bradypus variegatus* de vida libre en la zona de San José de Upala, Alajuela.

1.3.2. Objetivos específicos

1.3.2.1. Determinar valores referenciales del hemograma en perezosos *Choloepus hoffmanni* y *Bradypus variegatus*.

1.3.2.2. Establecer valores de referencia de proteínas totales, albúmina, globulina, relación albúmina-globulina (A/G), glucosa, nitrógeno ureico (NU), creatinina, aspartato amino transferasa (AST), calcio (Ca) y fósforo (P) de perezosos *C. hoffmanni* y *B. variegatus*.

1.3.2.3. Comparar mediante estadística descriptiva y probabilística la presencia de diferencias hematológicas y bioquímicas entre ambas especies.

2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Periodo y lugar de estudio

El muestreo se realizó entre los meses de marzo de 2009 a febrero de 2010 y el área de estudio abarcó varias fincas ubicadas en el distrito de San José (10° 57' 13.17" N; 85° 08' 08.71" O), cantón de Upala (10° 53' 29.77" N; 85° 00' 50.60" O), Alajuela. Todas las fincas están dedicadas a la producción de cacao (*Theobroma cacao*), el paisaje es agrícola complementado con ríos, bosques primarios y secundarios. Además, en la zona existe una fuerte actividad ganadera. La población humana se estima en 7.635 personas de las cuales 4.042 son hombres y muchas de las familias están compuestas por inmigrantes nicaragüenses (www.muniupala.go.cr, 2012).

2.2. Población de estudio

Los animales fueron identificados con base en las características fenotípicas por especie (Carrillo et al., 1999), sexo y edad aproximada. Debido a la falta de un método para determinar la edad, se tomó el peso como indicativo de la misma; se definieron como adultos los animales con un peso superior a 2.25 kilogramos para los de la especie *B. variegatus* y de 4.0 kilogramos los de la especie *C. hoffmanni* (Nowak, 1991).

2.2.1 Distribución de la población

La población muestreada para la hematología comprendió 80 animales, sin embargo algunas de las muestras no se pudieron procesar por causa de hemólisis o coagulación, por lo que el total de muestras fue de 67 animales: 40 individuos de *C. hoffmanni* (17 hembras, 18 machos, 5 no sexados; 11 juveniles, 29 adultos) y 27 individuos de *B. variegatus* (14 hembras, 11 machos, 2 no sexados; 2 juveniles, 25 adultos) (Anexo 1).

Mientras que para la química plasmática la población muestreada fueron 69 animales, pero solo 58 muestras fueron procesadas por las razones anteriormente citadas, 33 para *C. hoffmanni* (17 hembras, 15 machos, 1 no sexado; 3 juveniles, 30 adultos) y para *B. variegatus* 25 individuos (15 hembras, 9 machos, 1 no sexado; 25 adultos) (Anexo 1).

2.3. Captura y liberación de los animales

Los animales fueron rastreados por medio de telemetría y en cada punto de captura se registraron las coordenadas por medio de un sistema de posicionamiento global (GPS). Los animales capturados fueron identificados con un microchip subcutáneo, el cual evitó muestrear dos veces al mismo animal.

La captura de los animales se realizó de manera manual, sujetándolos directamente con guantes de cuero o bien cortando la rama del árbol en el cual se encontraban y atrapándolos

con una red o toldo para evitar su caída. Después fueron colocados en sacos de gangoche para su transporte hasta el sitio de estudio (Deem y Fiorello, 2002).

Los individuos de la especie *C. hoffmanni*, debido a que presentan un comportamiento más agresivo, fueron anestesiados, previo a la toma de información o examen clínico, con una combinación de dexmedetomidina (Dexdomitor®, Pfizer, 1.0 mg/ml; 0.02mg/kg) y ketamina (Ketamin 10%®, Bremer Pharma, 100 mg/ml; 2.5 mg/kg), por medio de una inyección intramuscular a través del saco de gangoche. Una vez tomada la muestra se utilizó una inyección intramuscular de atipamezole (Antisedan®, Orion, 5 mg/ml) como revertor con una dosis de 0.02 mg/kg (Hanley, *et al.*, 2008).

Una vez finalizado el muestreo los animales fueron regresados, lo más pronto posible, al mismo punto de captura localizado con el GPS, asegurándose que el animal escalara nuevamente a un árbol.

2.4. Recolección de muestras de sangre y su procesamiento

2.4.1 Hematología

La toma de muestras se realizó por medio de la venopunción de la vena yugular, asépticamente utilizando una jeringa de 5 cc con una aguja calibre 23 de 1 ½ pulgada de longitud.

Todas las muestras fueron conservadas en una hielera a 4 °C hasta sus análisis y transportadas lo más pronto posible al Laboratorio de Análisis Clínicos de la Escuela de Medicina Veterinaria, UNA, para su procesamiento.

Para el análisis de la hematología se tomaron 3 ml de sangre, el anticoagulante utilizado fue la sal del ácido etilendiaminotetracético (EDTA). Las muestras fueron rotuladas y colocadas en posición vertical en una gradilla a 4 °C dentro de una hielera.

Los análisis hematológicos realizados fueron los que comprenden parte del hemograma, a saber: el hematocrito, la hemoglobina, la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), el cómputo de leucocitos y su diferencial. Además se realizaron las correspondientes observaciones morfológicas de las líneas celulares eritrocitaria y leucocitaria.

Los parámetros hematológicos se cuantificaron por medio de métodos manuales. Para el hematocrito se utilizó el método de microhematocrito, utilizando la centrífuga de microhematocrito (Hettichheamatokrit 210) y un lector de microhematocrito (Damon/IEC Division). La hemoglobina se cuantificó por el método de cianometahemoglobina por medio del espectrofotómetro Coleman junior II, Modelo 6/20. La concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) se obtuvo por cálculo matemático.

El cómputo de leucocitos se realizó mediante la cámara o retículo de Neubauer (Fowler, 2001; Meneses et al., 2007; Ospina et al., 2009). El diferencial leucocitario (neutrófilos, linfocitos, monocitos y eosinófilos) se realizó de un frotis sanguíneo, teñido con el colorante May

Grünwald-Giemsa (Meneses et al., 2007), observándose en un microscopio de luz a un aumento de 100X.

2.4.2 Química plasmática

En cuanto a la química plasmática, la venopunción se realizó mediante una jeringa impregnada con heparina sódica de 50.000 UI y se colocaron entre 2 – 3 ml de sangre en tubos, previamente identificados. Las muestras se dejaron a temperatura ambiente por 20 minutos para permitir la sedimentación de los eritrocitos y luego fueron centrifugadas por 5 minutos a 2500 rpm con el fin de extraer el plasma, el cual fue separado en tubos eppendorf y colocados a 4 °C en una hielera.

Las variables bioquímicas evaluadas, por ser aquellas que reflejan la actividad de los llamados órganos de choque, fueron proteínas totales, albúmina, globulina, relación albúmina-globulina, glucosa, nitrógeno ureico, creatinina, la enzima AST y los minerales calcio y fósforo. Para estas pruebas se utilizaron métodos con base en la colorimetría y cinéticos semiautomáticos, por medio de un espectrofotómetro, Metrolab 1600, y reactivos de la casa Wiener (Vademecum, 2000). La exactitud y precisión de los análisis se verificó por medio de un programa de seguridad analítica, utilizando sueros controles comerciales Wiener (Vademecum, 2000).

2.5. Diseño estadístico

Se elaboro una base de datos simple en Microsoft Excel con todos los valores obtenidos para cada variable y según la especie, posteriormente se utilizó el programa estadístico *InfoStat* con la finalidad de obtener los valores estadísticos: media, desviación estándar, coeficiente de variabilidad, valor mínimo, máximo y mediana. Las diferencias significativas se obtuvieron mediante la aplicación de la prueba T y se estableció un valor α de 0,05.

3. RESULTADOS

Una vez obtenidos los valores de cada variable sanguínea se realizó un análisis estadístico previo (Anexo 2), debido a que algunos de los resultados se encontraban fuera de la distribución normal según la campana de Gauss (Anexo 3), se decidió eliminarlos, basados en la desviación estándar.

Una vez realizada esta selección se recalcularon mediante estadística descriptiva los valores hematológicos de las dos especies de perezosos, los cuales se presentan a continuación en los Cuadros 1 y 2.

Cuadro 1. Valores de hematología obtenidos para *C. hoffmanni*.

Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máy	Mediana
Hematocrito %	40	34.45	3.14	9.11	29.00	40.50	34.25
Hemoglobina g/dl	40	9.59*	0.94	9.78	7.40	11.60	9.55
CHCM g/dl	40	27.91*	2.42	8.66	21.79	32.90	27.94
C. leucocitos μ l	28	7927.68*	3526.13	44.48	3200.00	14850.00	6900.00
N. bandas μ l	28	175.21	102.50	58.50	71.00	384.00	158.00
N. segmentados μ l	28	4751.36*	2970.12	62.51	728.00	10902.50	4000.00
Eosinófilos μ l	28	414.30*	247.45	59.73	74.00	1000.00	391.38
Basófilos μ l	28	147.30	80.95	54.96	32.00	237.00	156.00
Linfocitos μ l	28	2846.10	1447.74	50.87	648.00	6875.00	2806.00
Monocitos μ l	28	125.44	120.38	95.96	52.00	430.00	71.00
Plaquetas μ l	26	220614.4*	46548.21	21.10	136524.0	285159.0	221301.00

*Presentan diferencias significativas con respecto a *B. variegatus*, basados en un 95% de confianza.

n: Número, D.E: Desviación estándar, CV: Coeficiente de variación N: Neutrófilos

Cuadro 2. Valores de hematología obtenidos para *B. variegatus*.

Variable	N	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana
Hematocrito %	26	33.92	3.62	10.68	26.00	40.00	33.00
Hemoglobina g/dl	26	10.27*	1.18	11.48	7.60	12.10	10.80
CHCM g/dl	26	30.34*	2.50	8.23	22.69	35.16	30.39
C. leucocitos μ l	25	6086.32*	2529.52	41.56	3150.00	11000.00	5750.00
N. bandas μ l	25	337.93	291.06	86.13	54.00	990.00	240.00
N. segmentados μ l	25	3059.71*	2024.26	66.16	288.00	7942.00	2349.50
Eosinófilos μ l	25	144.74*	77.47	53.52	55.00	313.50	145.00
Basófilos μ l	25	49.50	19.09	38.57	36.00	63.00	49.50
Linfocitos μ l	25	2783.20	1228.50	44.14	1470.00	5628.00	2419.00
Monocitos μ l	25	124.29	77.55	62.39	34.00	230.00	127.00
Plaquetas μ l	19	118965.8*	37805.7	31.78	67895.0	190106.0	125514.0

*Presentan diferencias significativas con respecto a *C. hoffmanni*, basados en un 95% de confianza.

n: Número, D.E: Desviación estándar, CV: Coeficiente de variación N: Neutrófilos

Posteriormente se procedió a establecer los rangos de referencia para cada especie con la desviación estándar. Los datos obtenidos se muestran en el Cuadro 3:

Cuadro 3. Rangos de referencia para la hematología de ambas especies de perezosos.

Variable	<i>C. hoffmanni</i>	<i>B. variegatus</i>
Hematocrito %	31.0 – 38.0	31.0 – 38.0
Hemoglobina g/dl	8.6 – 10.5	9.0 - 11.4
CHCM g/dl	25 – 30	28 – 33
C. leucocitos μ l	4400.0 – 11450.0	3550.0 - 8600.0
N. bandas μ l	30.0 – 515.0	30.0 – 515.0
N. segmentados μ l	1780.0 – 7720.0	1035.0 – 5085.0
Eosinófilos μ l	165.0 – 660.0	65.0 – 220.0
Basófilos μ l	40.0 – 200.0	40.0 – 200.0
Linfocitos μ l	1480.0 – 4155.0	1480.0 – 4155.0
Monocitos μ l	25.0 – 225.0	25.0 – 225.0
Plaquetas μ l	175000.0 – 267900.0	80000.0 – 155000.0

Al igual que con los valores obtenidos para la hematología, los resultados para la química plasmática mayores o menores al aplicar la desviación estándar fueron eliminados y se recalculo la estadística descriptiva correspondiente, que se muestran en los Cuadros 4 y 5:

Cuadro 4. Valores de química plasmática para *C. hoffmanni*.

Variable	n	Media	D.E.	C.V.	Mín	Máx	Mediana
Proteínas g/dl	33	6.8*	0.70	10.33	5.7	8.5	6.8
Albumina g/dl	33	3.6*	0.48	13.40	2.6	5.0	3.5
Globulinas g/dl	33	3.2	0.7	23.13	2.0	5.1	3.1
A/G	33	1.1*	0.48	42.44	0.0	1.9	1.0
Glucosa mg/dl	30	58.1*	12.27	21.11	36.0	89.0	58.5
AST UI/L	30	72.3*	19.24	26.60	35.0	105.0	70.5
BUN mg/dl	31	20.0*	7.43	37.19	6.5	36.4	18.0
Creatinina mg/dl	33	0.6	0.15	26.30	0.2	0.9	0.6
Calcio mg/dl	33	8.3*	1.27	15.20	6.0	12.0	8.0
Fósforo mg/dl	33	4.3*	1.38	32.01	2.2	8.7	3.9

*Presentan diferencias significativas con respecto a *B. variegatus*, basados en un 95% de confianza.

n: Número, D.E: Desviación estándar, CV: Coeficiente de variación

Cuadro 5. Valores de química plasmática para *B. variegatus*.

Variable	N	Media	D.E.	C.V.	Mín	Máx	Mediana
Proteínas g/dl	25	7.3*	0.65	8.86	6.4	8.4	7.2
Albumina g/dl	25	4.4*	0.37	8.52	3.6	5.0	4.4
Globulinas g/dl	25	2.9	0.69	23.35	1.9	4.0	3.1
A/G	25	1.6*	0.50	31.25	1.0	2.6	1.4
Glucosa mg/dl	20	80.5*	20.86	25.90	53.0	139.0	77.0
AST UI/L	22	189.9*	35.22	18.55	137.0	260.0	184.0
BUN mg/dl	24	16.3*	5.41	33.26	6.4	28.4	16.1
Creatinina mg/dl	25	0.6	0.10	17.95	0.4	0.8	0.6
Calcio mg/dl	25	10.4*	2.06	19.76	6.0	15.0	10.0
Fósforo mg/dl	25	3.4*	1.19	34.41	1.2	5.4	3.5

*Presentan diferencias significativas con respecto a *B. variegatus*, basados en un 95% de confianza.

n: Número, D.E: Desviación estándar, CV: Coeficiente de variación

Los rangos referenciales se obtuvieron al aplicar la desviación estándar al valor de la media y se presentan en el Cuadro 6 a continuación:

Cuadro 6. Rangos referenciales para la química plasmática de ambas especies.

Variable	<i>C. hoffmanni</i>	<i>B. variegatus</i>
Proteínas g/dl	6.1 - 7.5	6.7 - 8.0
Albumina g/dl	3.1 - 4.1	4.0 - 4.8
Globulinas g/dl	2.4 - 3.8	2.4 - 3.8
A/G	0.65 - 1.61	1.1 - 2.1
Glucosa mg/dl	46 - 70	60 - 101
AST UI/L	53 - 92	155 - 225
BUN mg/dl	13 - 27	11 - 22
Creatinina mg/dl	0.4 - 0.7	0.4 - 0.7
Calcio mg/dl	7.1 - 9.6	8.4 - 12.5
Fósforo mg/dl	2.9 - 5.7	2.3 - 4.6

4. DISCUSIÓN

Los rangos referenciales establecidos de hematología y química plasmática constituyen los primeros datos obtenidos de una población de perezosos de las especies *C. hoffmanni* y *B. variegatus*, de vida libre en la zona de San José de Upala, Alajuela, Costa Rica.

El número de animales, la metodología empleada, el programa de seguridad analítica que permite evaluar la precisión y exactitud por medio de los sueros controles de calidad, los cálculos estadísticos obtenidos y la distribución de los valores, permite considerar que los rangos referenciales son confiables y representativos de una población de perezosos de vida libre.

Los datos presentaron una variabilidad esperada para una población de vida libre, se conoce que los animales en cautiverio enfrentan factores predisponentes al estrés más homogéneos, por tanto los resultados de las diferentes variables pueden presentar desviaciones estándar más bajas (Baronetzky-Mercier, 1995). Por lo cual, es de esperar que la población de vida libre estudiada, presentara desviaciones estándar altas, es decir una mayor dispersión alrededor de la media. Además, se debe considerar que la variable por sí misma y factores como metabolismo, edad, género, condiciones ambientales, dieta, estrés, restricción manual, drogas anestésicas y el método de análisis pueden inducir variaciones en los valores hematológicos y de química plasmática.

Al analizar los datos entre ambas especies, con un valor de α 0.05, se observan diferencias significativas en los parámetros hematológicos de: hemoglobina, CHCM, cómputo de leucocitos, neutrófilos segmentados, eosinófilos y plaquetas (Cuadros 1 y 2).

Los valores de hemoglobina y CHCM superiores en *B. variegatus* podrían asociarse a la dieta o a su mayor actividad física. El cómputo de leucocitos y neutrófilos segmentados superiores en *C. hoffmanni* se puede deber a un mayor estrés durante la captura debido a su comportamiento más agresivo o al uso de anestésicos previo a la toma de la muestra.

La diferencia con respecto a las plaquetas puede ser causa de una respuesta más rápida a la captura como reacción defensiva, considerando el comportamiento más violento de *C. hoffmanni*.

En el caso de la química plasmática (Cuadros 3 y 4), al realizar la prueba T con un valor α 0,05 se encontraron diferencias significativas en los valores obtenidos para glucosa, AST, calcio y fósforo entre ambas especies. Las únicas variables que no presentaron diferencias significativas fueron las globulinas y la creatinina. Los valores en general, excepto el fósforo fueron superiores en *B. variegatus* con respecto a *C. hoffmanni*. Los valores superiores de las proteínas totales y fraccionadas, así como la glucosa y el BUN pueden explicarse por el comportamiento diurno de la primera especie que le permite una mayor disponibilidad de alimento, sumado a que las capturas se realizaban durante el día, por lo cual los animales de esta especie tenían mayor oportunidad de alimentarse comparados con los de la otra especie.

Con relación a la AST, los valores obtenidos también fueron mayores para *B. variegatus* y podría asociarse a mayor actividad metabólica, específicamente muscular. En cuanto al calcio y fósforo, es necesario tomar en cuenta la distribución, hembras – machos de los animales muestreados y su estatus reproductivo.

La comparación de resultados entre diferentes estudios no es recomendable por diversos factores, entre ellos las metodologías aplicadas, sin embargo se observa que los datos obtenidos de hematología, con excepción del conteo de leucocitos y su diferencial, son similares a los reportados por otros autores para la especie *Choloepus* spp. (Marvin y Shook, 1963; Toole, 1972; Bush y Gilroy, 1979; Meritt, 1985; Wallace y Oppenheim, 1996; Vogel *et al.* 1999).

Con respecto a la química, los valores para proteínas totales, nitrógeno ureico, creatinina, AST, glucosa, calcio y fósforo son similares a los reportados para la literatura para el género *Choloepus* spp.

En el caso de *B. variegatus* no se encuentran muchos estudios en la literatura, sin embargo los valores obtenidos son similares a los de Medeiros, 1993 y Durán, 2005.

Los valores de hematología y química sanguínea que aquí se presentan se pueden utilizar como valores de referencia para la evaluación fisiológica y de alteraciones patológicas de perezosos de las especies *C. hoffmanni* y *B. variegatus*.

5. CONCLUSIONES

- Se lograron determinar los valores referenciales para el hemograma y los metabolitos proteínas totales, albúmina, globulina, relación albúmina-globulina (A/G), glucosa, nitrógeno ureico (NU), creatinina, aspartato amino transferasa (AST), calcio (Ca) y fósforo (P) en perezosos *C. hoffmanni* y *B. variegatus*, los cuales pueden ser utilizados para la evaluación clínica de las dos especies de perezosos descritas.
- Algunos valores hematológicos, como el cómputo de leucocitos, presentan diferencias entre ambas especies, lo que se puede asociar al uso de anestésicos y el comportamiento normal en el caso de *C. hoffmanni*.
- Este es el primer estudio sobre los valores hematológicos y de química plasmática con una muestra representativa de individuos en vida libre en nuestro país.

6. RECOMENDACIONES

- Es importante realizar más estudios en Costa Rica país con la finalidad de conocer sobre los aspectos médico - veterinarios de los perezosos, para contribuir con la preservación de las especies.
- Para tomar una muestra sanguínea de mayor volumen se recomienda utilizar la vena yugular externa, con una aguja calibre 23 y una longitud de 1 ½ pulgada.
- En el caso de la química sanguínea y con la finalidad de obtener un mayor volumen de muestra, se recomienda utilizar una jeringa impregnada con heparina sódica.
- Al estudiar los resultados obtenidos se deben tomar en cuenta aspectos como el manejo de la muestra, tipo de restricción, drogas utilizadas, ayuno, método de análisis, entre otras, para su correcta interpretación.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baronetzky- Mercier, A. 1995. Die Beurteilungshämatologischer Parameter. In Krankheiten der Zoo- und Wildtiere, R. Gltenboth and H.-G.Klö s. (eds.). Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin,Germany.
- Bush, M. & B.A. Gilroy. 1979. A bleeding technique from nonpalpable vessels in anesthetized two-toed sloths (*Choloepusdidactylus*) - plus hematologic data. Journal of Zoo Animal Medicine, 10: 26-27.
- Briton, S.V., R. F. Kline, & H. Silvette.1939. Blood chemical and other conditions in normal and adrenalectomized sloths. American Journal of Physiology 127: 701–704.
- Carrillo, E; G. Wong & J.Sáenz. 1999. Descripción de especies. P. 58-61. In Mamíferos de Costa Rica. Instituto Nacional de Biodiversidad, Costa Rica.
- Deem, S.L. & C.V. Fiorello. 2002. Capture and immobilization of free ranging edentates [en línea] <<http://www.ivis.org> (Consulta 8 marzo, 2009).
- Durán, A. 2005. Valores de hematología y de bioquímica sanguínea del perezoso de tres dedos (*Bradypus variegatus*) y del perezoso de dos dedos (*Choloepus hoffmanni*) en cautiverio en Limón, Costa Rica. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional, Costa Rica.

- Ettinger, S. & Feldman, E. 2000. Textbook of Veterinary Internal Medicine. 5th Edición. W.B Saunders. U.S.
- Fowler, M.E. & S.Z. Cubas. 2001 Order Xenarthra (Edentata) (Sloths, Armadillos, Anteaters). p.245-255. *In* Biology, medicine, and surgery of South American wild animals. Iowa State University, U.S.
- Hanley, C. S., J. Siudak-Campfield, J. Paul-Murphy, C. Vaughan, O. Ramírez, N. Keuler & K. Sladky. 2008. Immobilization of free-ranging hoffmann's two-toed and brown-throated three-toed sloths using ketamine and medetomidine: a comparison of physiologic parameters. *J. Wild. Dis.* 44: 938-945
- Genoways, H. & R. Timm. 2003. The xenarthrans of Nicaragua, mastozoología neotropical. *J. Neotrop. Mammal.* 10:231-253
- Gilmore, D.P; C.P. Da Costa, & D.P. Duarte. 2000. An update on the physiology of two- and three- toed sloths. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 33: 129- 146.
- Gilmore, D.P; C.P. Da Costa, & D.P. Duarte. 2001. Sloth biology: an update on their physiological ecology, behavior and role as vectors of arthropods and arboviruses. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 34: 9-25.

- Marvin, H. N., & B. R. Shook. 1963. Hematologic studies on the two-toed sloth. *Choloepus didactylus*. *Compendium of Biochemie and Physiology* 8: 187–189.
- Medeiros, I., A. Vasconcelos, A. Silveira, F. Henriques, P. Montenegro, N. Marcelino, D. Duarte, C. Da Costa & A. Cabral. 1993. Estudos hematológicos na preguiça (*Bradypus variegatus*). VIII Annual Meeting of the "Federação de Sociedades de Biologia Experimental", August 25-28, Caxambu, MG, Brazil.
- Meneses, A., J. Villalobos & E. Sancho. 1993. Manual de hematología y química clínica en medicina veterinaria. Fundación UNA. Heredia, Costa Rica.
- Merritt, D.A. 1985. The two-toed Hoffmann's sloth, *Choloepus hoffmanni* Peters. In *The Evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas*, G.G. Montgomery (ed.). Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.
- Molina H., C. Roldán, A. Sáenz & S. Torres. 1986. Hallazgo de *Bradypus griseus* y *Choloepus hoffmanni* (Edentata: Bradypodidae) en tierras altas de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 34: 165-166.
- Nowak, R. M. 1991. Orden Xenarthra. In: *Walker's mammals of the world*. 5 ed. Vol 1. The John Hopkins University Press. Baltimore, U.S.

- Pedrosa, M., Lima, A., Bezerra, A., Duarte, A & C. Da-Costa.2002. The effect of feeding on the respiratory activity of the sloth. *Braz. J. Med. Biol. Res.*35: 851 – 854.
- Vogel, I., J.C. Vie, B. de Thoisy& B. Moreau. 1999. Hematological and serum chemistry profiles of free ranging southern two- toed sloths in French Guiana. *J. Wild. Dis.* 35: 531- 535.
- Toole, J. F. 1972. Blood chemistry of the sloth (*Choloepus hoffmanni* and *Bradypus tridactylus*). *Lab. Ani. Science* 22: 118–121.
- Wainwright, M., 2002. Anteaters, sloths and armadillos (order Xenarthra) p.47-67. *In* The Natural history of Costa Rican mammals. Zona Tropical Publication., Florida, U.S.
- Wallace, C.,& Y. C. Oppenheim. 1996. Hematology and serum chemistry profiles of captive Hoffmann's two-toed sloths (*Choloepus hoffmanni*). *J. Zoo Wild. Med.* 27:339–345.

Anexo 1

Cuadro 7. Distribución de los animales muestreados para la hematología.

Especie	Total	Hembras	Machos	No sexados	Juveniles	Adultos
<i>C. hoffmanni</i>	40	17	18	5	11	29
<i>B. variegatus</i>	27	14	11	2	2	25
Total	67	31	29	7	13	54

Cuadro 8. Distribución de los animales muestreados para la química plasmática.

Especie	Total	Hembras	Machos	No sexados	Juveniles	Adultos
<i>C. hoffmanni</i>	33	17	15	1	3	30
<i>B. variegatus</i>	25	15	9	1	0	25
Total	58	32	24	2	3	55

Anexo 2

Cuadro 9. Valores de hematología obtenidos para *C. hoffmanni*.

Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana
Hematocrito %	40	34.45	3.14	9.11	29.00	40.50	34.25
Hemoglobina g/dl	40	9.59	0.94	9.78	7.40	11.60	9.55
CHCM g/dl	40	27.91	2.42	8.66	21.79	32.90	27.94
C. leucocitos μ l	40	13046.88	10870.00	83.31	2800.00	52900.00	10475.00
N. bandas μ l	40	401.86	487.36	121.28	71.00	1734.00	166.00
N. segmentados μ l	40	6916.59	5416.41	78.31	728.00	26524.00	6090.00
Eosinófilos μ l	40	906.58	865.03	95.42	74.00	3003.00	577.50
Basófilos μ l	40	147.30	80.95	54.96	32.00	237.00	156.00
Linfocitos μ l	40	5419.57	6219.68	114.76	648.00	33327.00	3437.00
Monocitos μ l	40	187.86	214.04	113.93	52.00	742.00	119.00
Plaquetas μ l	40	206432.91	78158.57	37.86	64225.00	361862.00	214328.00

Cuadro 10. Valores de hematología obtenidos para *B. variegatus*.

Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana
Hematocrito %	27	33.37	4.57	13.69	19.00	40.00	33.00
Hemoglobina g/dl	27	10.10	1.44	14.26	5.80	12.10	10.80
CHCM g/dl	27	30.35	2.45	8.07	22.69	35.16	30.53
C. leucocitos μ l	27	6785.48	5010.20	73.84	2600.00	28450.00	5750.00
N. bandas μ l	27	337.93	291.06	86.13	54.00	990.00	240.00
N. segmentados μ l	27	3247.18	2349.61	72.36	288.00	9673.00	2349.50
Eosinófilos μ l	27	221.14	285.29	129.01	55.00	1138.00	162.00
Basófilos μ l	27	49.50	19.09	38.57	36.00	63.00	49.50
Linfocitos μ l	27	3239.17	2971.22	91.73	1092.00	16785.50	2419.00
Monocitos μ l	27	215.44	267.63	124.22	34.00	853.50	146.00
Plaquetas μ l	27	123855.67	60232.58	48.63	34865.00	257634.00	125514.00

Anexo 3

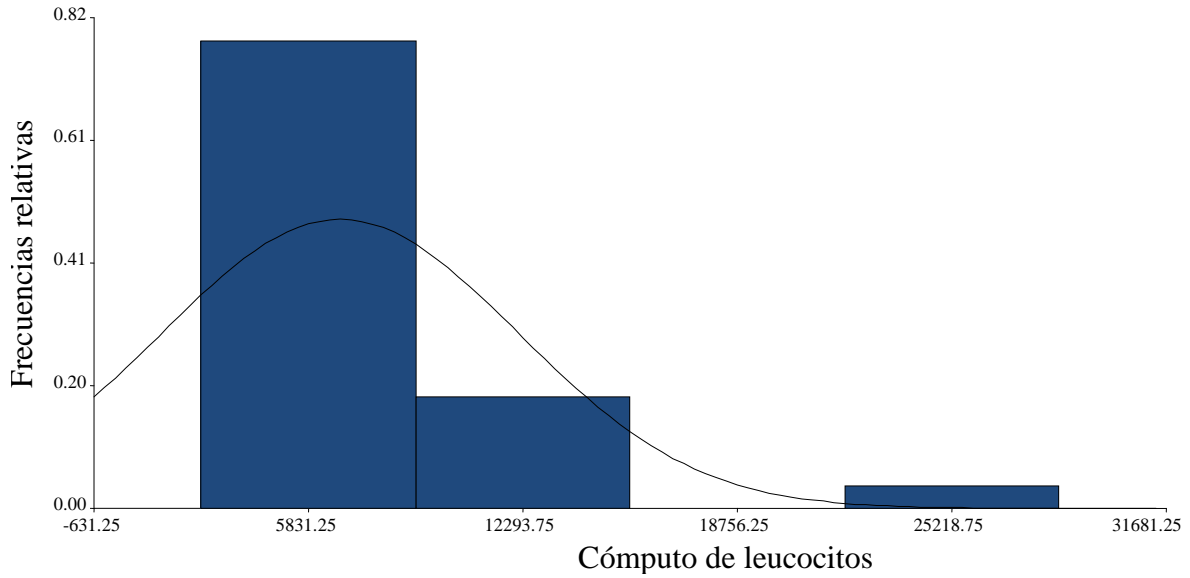


Figura 1. Campana de Gauss para los valores de cómputo de leucocitos para *B. variegatus*.

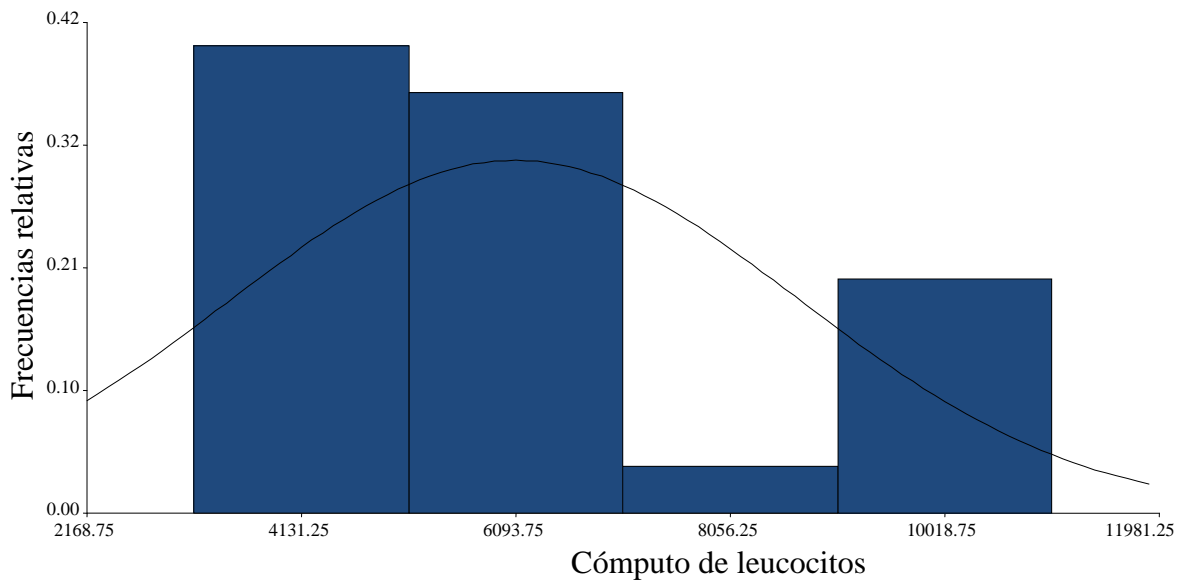


Figura 2. Campana de Gauss para los valores de cómputo de leucocitos para *B. variegatus* una vez eliminados \pm una desviación estándar.

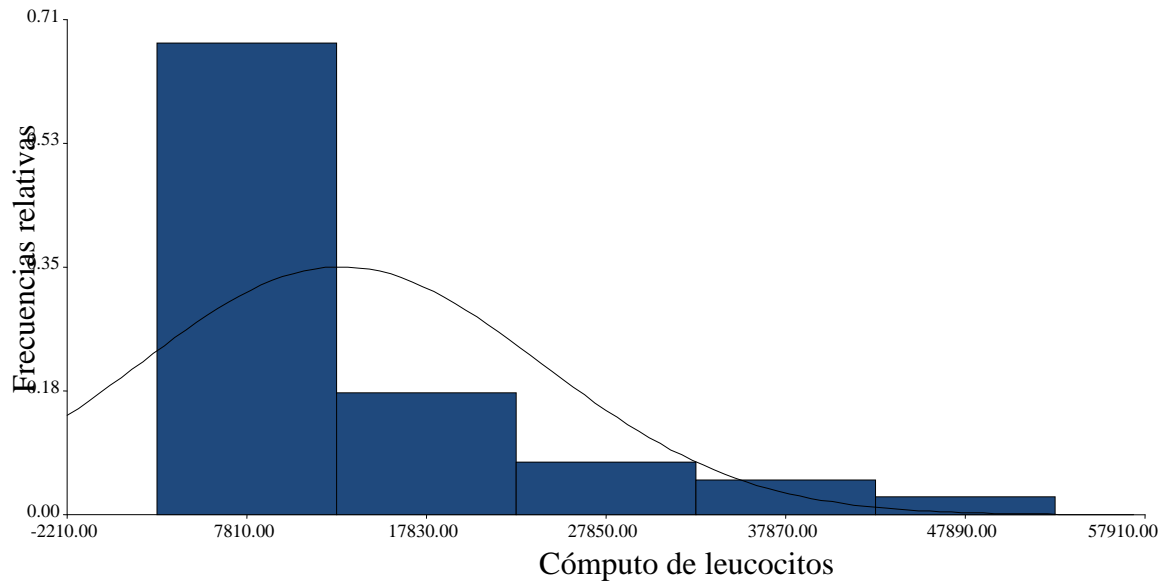


Figura 3. Campana de Gauss para los valores de cómputo de leucocitos para *C. hoffmanni*.

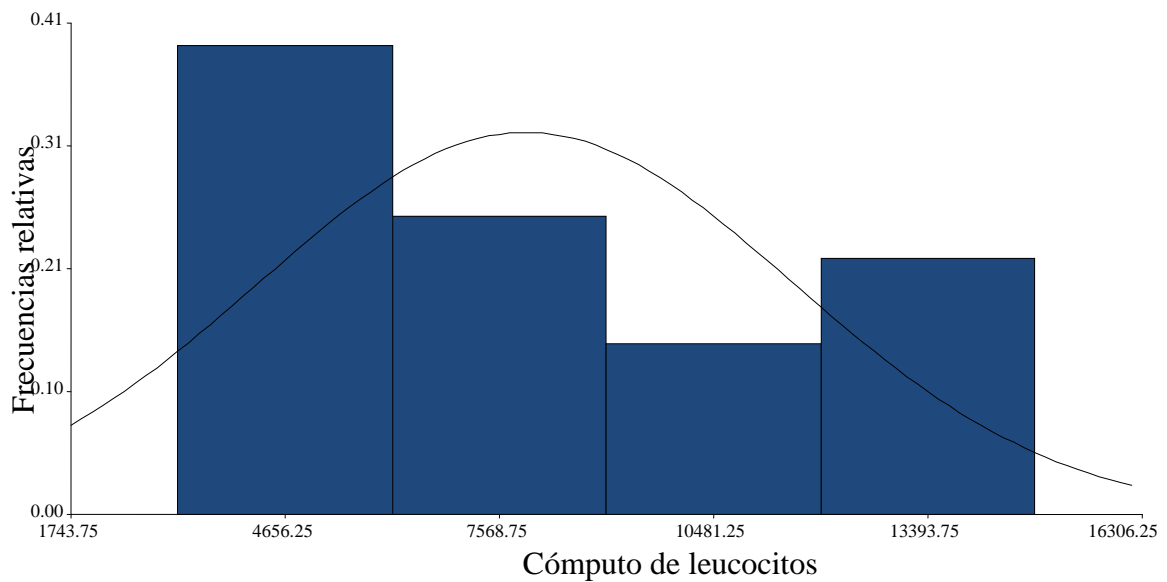


Figura 4. Campana de Gauss para los valores de cómputo de leucocitos para *C. hoffmanni* una vez eliminados \pm una desviación estándar.

Cuadro 8. Valores de química plasmática para *C. hoffmanni*.

Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx	Mediana
Proteínas g/dl	33	6.80	0.70	5.70	8.50	6.80
Albumina g/dl	33	3.59	0.48	2.60	5.00	3.50
Globulinas g/dl	33	3.21	0.74	2.00	5.10	3.10
A/G	33	1.13	0.48	0.00	1.90	1.00
Glucosa mg/dl	30	58.13	12.27	36.00	89.00	58.50
AST UI/L	33	101.91	105.19	12.00	491.00	71.00
BUN mg/dl	33	21.66	9.98	6.50	54.00	18.20
Creatinina mg/dl	33	0.58	0.15	0.20	0.90	0.60
Calcio mg/dl	33	8.33	1.27	6.00	12.00	8.00
Fósforo mg/dl	33	4.31	1.38	2.20	8.70	3.90

Cuadro 9. Valores de química plasmática para *B. variegatus*.

Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx	Mediana
Proteínas g/dl	25	7.32	0.65	6.40	8.40	7.20
Albumina g/dl	25	4.38	0.37	3.60	5.00	4.40
Globulinas g/dl	25	2.94	0.69	1.90	4.00	3.10
A/G	25	1.60	0.50	1.00	2.60	1.40
Glucosa mg/dl	20	80.55	20.86	53.00	139.00	77.00
AST UI/L	25	168.12	68.56	2.00	260.00	180.00
BUN mg/dl	25	15.78	5.82	4.20	28.40	15.90
Creatinina mg/dl	25	0.58	0.10	0.40	0.80	0.60
Calcio mg/dl	25	10.44	2.06	6.00	15.00	10.00
Fósforo mg/dl	25	3.44	1.19	1.20	5.40	3.50

Anexo 4

Cuadro 10. Valores de hematología obtenidos en este estudio y por otros autores para *B. variegatus*.

Variable	Durán (2005)	Hagnauer (2012)	Medeiros (1993)
Hematocrito %	35.5	33.9	34.2
Hemoglobina g/dl	10.8	10.27	11.06
CHCM g/dl	30.8	30.34	NR
C. leucocitos μ l	10135	6086	12460.0
N. bandas μ l	10.3	337.9	NR
N. segmentados μ l	2827.6	3059.7	4336.0
Eosinófilos μ l	172.0	144.7	NR
Basófilos μ l	50.6	49.5	NR
Linfocitos μ l	6993.1	2783.2	7027.0
Monocitos μ l	81.0	124.2	NR
Plaquetas μ l	NR	118965.8	NR

NR: No reportado

Cuadro 11. Valores de química plasmática obtenidos en este estudio y por otros autores para *B. variegatus*.

Variable	Durán (2005)	Hagnauer (2012)
Proteínas g/dl	7.2	7.3
Albumina g/dl	3.9	4.4
Globulinas g/dl	3.3	2.9
A/G	1.3	1.6
Glucosa mg/dl	20.4	80.5
AST UI/L	116.8	189.9
BUN mg/dl	19.8	16.3
Creatinina mg/dl	0.8	0.6
Calcio mg/dl	8.2	10.4
Fósforo mg/dl	7.6	3.4

