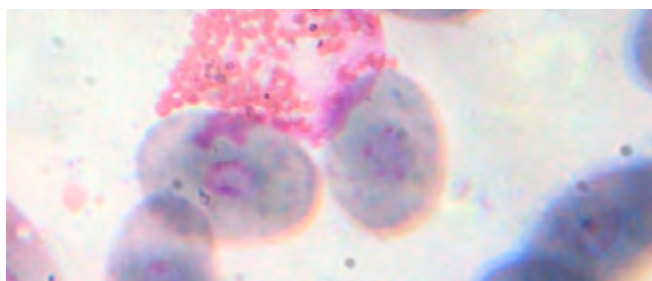
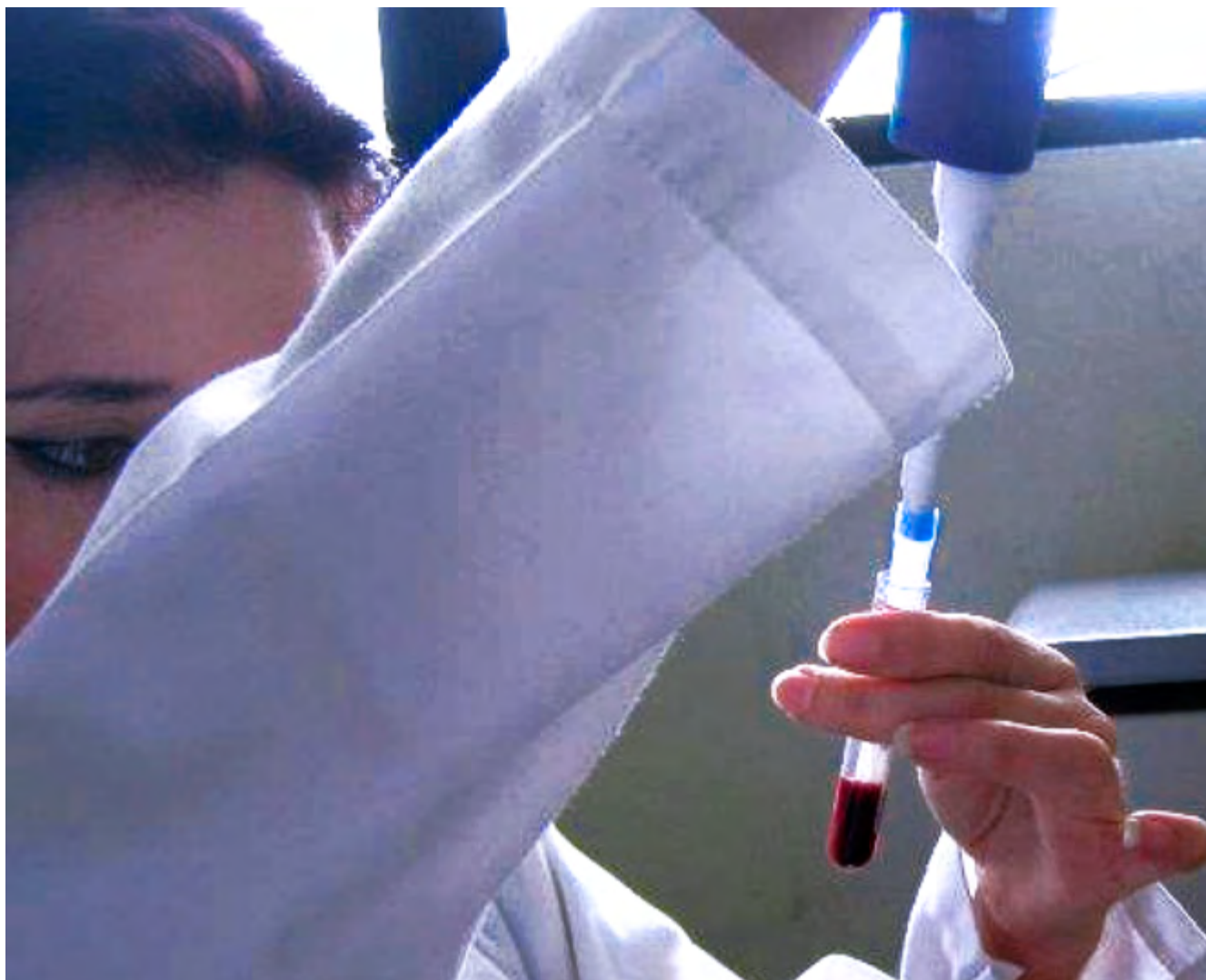


Resumen.

Tanto a nivel mundial como en El Salvador, los datos reportados en relación con la hematología y bioquímica sanguínea en tortugas marinas son escasos. El país es un área importante para *Lepidochelys olivacea*, comúnmente conocida como tortuga golfina (Ver figura 1A) por lo que se consideró de suma importancia determinar los valores de referencia para la especie, anexo a esto a nivel mundial no se encontró ningún estudio con el perfil completo para esta especie, por lo que el objetivo de esta investigación fue establecerlos como una ayuda a la detección temprana de posibles enfermedades infecciosas, metabólicas, parasitarias entre otras.

Bajo este contexto, este trabajo caracterizó el perfil hematológico y bioquímico sanguíneo de las hembras anidantes de la especie golfina (*Lepidochelys olivacea*) de la Playa San Diego, Departamento de La Libertad, El Salvador.

Palabras Claves: Hematología, Bioquímica Sanguínea, Tortuga Golfina, Valores de Referencia. Información adicional: Registro de la propiedad intelectual ELS/CNR-597-2011



Valores hematológicos y bioquímicos sanguíneos de tortugas anidantes de Golfina (*Lepidochelys olivacea*) en El Salvador.

Paola Raquel Santillana Segovia.

Licenciada en Biología. Investigadora Independiente.
e-mail: amaru_santillana@yahoo.es

Introducción

La tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) es la especie más abundante del Pacífico Oriental. Son muchas las investigaciones desarrolladas entorno a esta especie siempre orientadas a su conservación. En El Salvador *Lepidochelys olivacea* es la tortuga marina más abundante para la costa, con el 82.24% (6399 individuos) de las hembras anidantes; representa la especie con mayor cantidad de anidaciones en la región, siendo esta una de las especies en estado vulnerable del planeta, y clasificada en la categoría de "En Peligro de extinción" según la IUCN. (IUCN, 2010; Vásquez, et al 2008).

Las características de la sangre refleja no solo condiciones fisiológicas, sino también ecológicas distintivas y características para cada especie, esta nos permite visualizar cualquier alteración de las actividades metabólicas del organismo; su análisis es una herramienta esencial que combinada con el historial, exploración física y otros proveen un diagnóstico del estado de salud de un animal (Voigth, 2000). Para lograr este diagnóstico, es imprescindible contar con parámetros sanguíneos previamente establecidos y estandarizados (Bergeron et al., 2007).

La determinación de los valores hematológicos y de bioquímica sanguínea de tortugas *L. olivacea* anidantes de la Playa San Diego representa el primer estudio a nivel nacional con el cual se logró el objetivo de generar una referencia clínica esencial que ayudará a evaluar el estado de salud de esta especie dentro de nuestras costas salvadoreñas y de esta manera dar un paso importante hacia la conservación de la especie.

Materiales y diseño metodológico

Ubicación Geográfica del área de estudio

La zona de muestreo se ubica en La Playa San Diego, Departamento de La Libertad, con una extensión de 1,652.88 Km. Limita al norte con Chalatenango; al este con San Salvador; al sur con el océano Pacífico; y al oeste con Santa Ana y Sonsonate (CORSATUR, 2004). La playa San Diego, pertenece al departamento y municipio de La Libertad, posee una amplia extensión con más de 7 Km. de playa, sus coordenadas son 13°28'01.13"N 89°15'18.97" O con una elevación de 3 m.s.n.m. (Ver Figura 2)

Método de extracción de la muestra de sangre.

El periodo de muestreo se realizó de Septiembre a Diciembre del 2011, la caracterización ambiental consistió en la evaluación de la playa de forma descriptiva evaluando

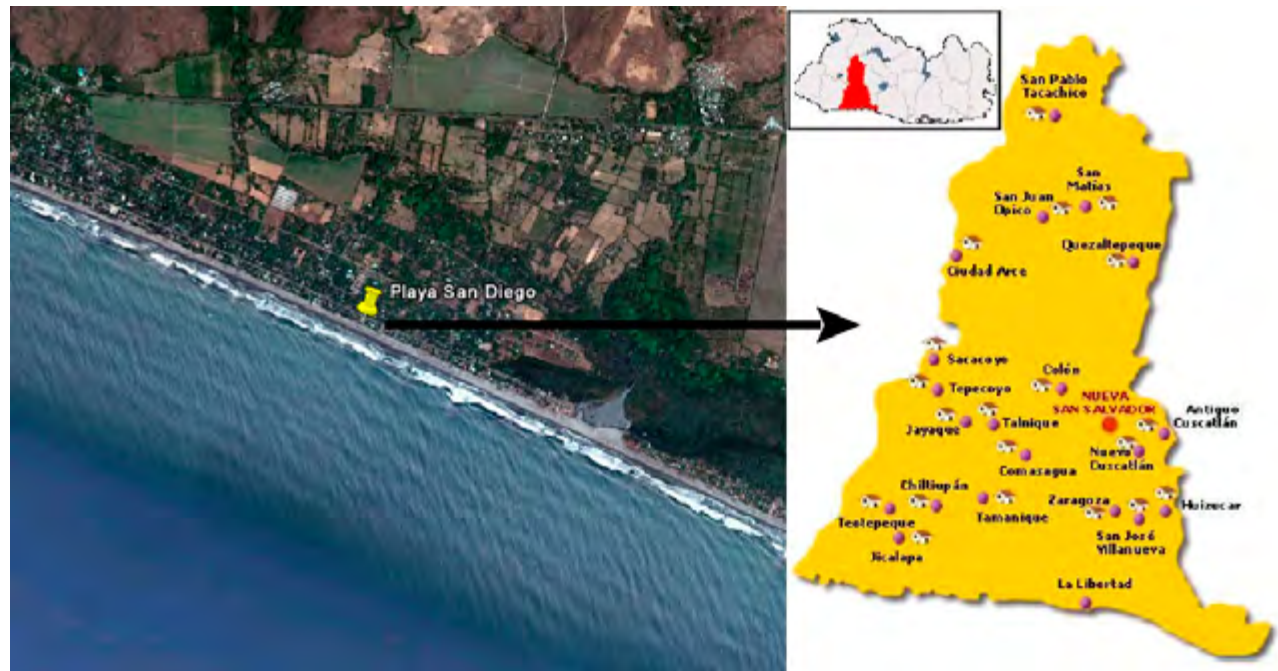


Figura 2: Ubicación Geográfica de La Playa San Diego, La Libertad. Fuente: GeoEye 2012. Data SIO, NOAA, U.S. Navy, NGA, GEBCO

los factores que pudiesen perturbar o influir en la zona de anidación de la tortuga anidante. Para la caracterización del perfil hematológico y de química sanguínea se obtuvo la muestra sanguínea de 38 hembras anidantes, estas se localizaron mediante recorridos nocturnos (6:00 p.m. a 5 a.m.) en los 7 Km. de playa. Antes de obtener la muestra sanguínea se verificó que las tortugas estuviesen aparentemente sanas mediante la evaluación física (Ver figura 1A).

Se extrajo la muestra de sangre de la vena yugular externa. El procedimiento fue colocarse frente a la tortuga y a la mitad del proceso del desove se desinfectaba el área con un algodón impregnado con alcohol al 90 % y se introducía la jeringa con aguja calibre 21 mm en ángulo perpendicular al cuello localizando la yugular externa (Ver figura 1B) y obteniendo 6 ml. de sangre; los que fueron depositados en un tubo vacutainer con suspensión de heparina de sodio como agente anticoagulante y la otra mitad en un tubo vacutainer sin anticoagulante. Posterior a la extracción se retiró la aguja con mucho cuidado y se presionaba la zona para evitar hematomas.

Continuamente se les colocaba placas metálicas incoel entre la segunda y tercera escama, (según protocolo predeterminado) para evitar la repetición de las tortugas muestreadas.

Manejo de las muestras.

Las muestras se colectaron por la noche e inmediatamente se llevaron a una nevera convencional (4°C) para evitar que los parámetros fueran afectados. Posterior a esto se llevaron en la mañana siguiente las muestras al Centro de Investigación y desarrollo de la salud (CENSALUD). Una vez ahí se centrifugo la muestra del tubo sin anticoagulante durante 10 min a 2,000 rpm para obtener el plasma sanguíneo para las pruebas de química sanguínea.

Metodología de laboratorio.

Se evaluaron los diferentes parámetros hematológicos, medidos a partir de la muestra que se contuvo en el tubo con heparina de sodio:

Hematocrito se determinó mediante el método del microhematocrito, Hemoglobina se obtuvo del % del hematocrito dividido entre 3, El Recuento de Glóbulos Rojos

(RGR) se obtuvo multiplicando el valor porcentual por 1.1. El Recuento de Glóbulos Blancos (RGB) se observó en el microscopio y se contabilizó el número de leucocitos en la cámara de Neubauer. Adicionalmente se determinó el volumen corpuscular medio (VCM), Concentración de hemoglobina corpuscular medio (CHCM), Hemoglobina corpuscular media (HCM) La determinación de estos índices hematimétricos se determinaron mediante cálculos matemáticos (Metodología según laboratorio de CENSALUD).

El recuento diferencial de glóbulos blancos se hizo haciendo uso de la técnica cruzada o errante que consistió en encontrar un glóbulo blanco y se identificó, el número se determinó mediante un contador, en este caso un contador manual. Los resultados se obtuvieron en porcentajes (Metodología según laboratorio de CENSALUD).

En el laboratorio las muestras de suero (Ver figura 1C), obtenidas de tubos Vacutainer© sin anticoagulante, fueron analizadas por duplicado por medio de técnicas espectrofotométricas usando un analizador de bioquímica clínica semi-automatizado Microlab 300 de marca Shimadzu UV. Los protocolos fueron los definidos en los kit comerciales (Human) de acuerdo a las especificaciones del proveedor. Los parámetros evaluados fueron: Glucosa, Colesterol, Bilirrubina, Urea, BUN (Nitrógeno Uréico presente en la sangre), Creatinina, ASAT (Aspartato Aminotransferasa), ALAT (Alanino Aminotransferasa).

Resultados.

Se lograron determinar cinco tipos celulares pertenecientes a los leucocitos, los que se describen a continuación.

Heterófilos: Se observaron como células redondas u ovaladas con un borde citoplasmático liso, con gránulos pequeños y un núcleo ubicado excéntricamente en la mayoría de las células, de forma ovalada. La cromatina teñida desde un rojo azulado a púrpura (Ver figura 3C).

Eosinófilos: Se observaron como células redondas, con borde citoplasmático liso, con gránulos redondos grandes y escasos de coloración rojiza a violeta. El núcleo presentó forma lenticular u oval de color púrpura y ubicación excéntrica. Se diferencia de los heterófilos por el tamaño de sus gránulos. La reacción a la tinción del núcleo es en los gránulos de un color anaranjado debido a la reacción ácida (Ver figura 3B).

Basófilos: Se observaron generalmente como pequeñas células redondas que contienen gránulos, a menudo ocultan el núcleo visible (Ver figura 3A).

Tabla 1: Perfil sanguíneo obtenido de las hembras anidantes de tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) de La Playa San Diego, La Libertad.

Variables	Media	±SD	Rango (Mín-Máx)
Hemoglobina (g/dl)	10.4953	4.42778	7.67 a 13.30
Hematocrito (%)	31.1842	1.47751	23.00 a 40.00
VCM (fl)	90.00	.44669	90 a 93.30
CHCM (g/dl)	32.06	.22476	32.06 a 33.35
HCM(pg/cell)	29.15	.54195	29.15 a 30.29
RGR(millones/mm ³)	2.53	.48590	2.53 a 4.40

Valores hematológicos de serie blanca en *Lepidochelys olivacea*.

Variables	Media	±SD	Rango (Mín-Máx)
RGB (miles/mm ³)	2263	318	1900– 2850
Heterófilos (%)	43.15	16.7	6 – 88
Linfocitos (%)	50.52	17.5	10 – 82
Eósinofilos (%)	4.052	5.83	0- 32
Basófilos (%)	1.47	1.89	0 – 8
Monocitos (%)	.368	.785	0- 2

Valores de química sanguínea en *Lepidochelys olivacea*.

Variables	Media	±SD	Rango (Mín-Máx)
Urea (mmol/L)	5.7028	2.15643	2.35-10.59
BUN (mmol/L)	2.7522	1.03484	1.09-4.93
Colesterol (mg/dl)	65.98	49.79	21.18-2.52
Glucosa (mmol/L)	12.2166	10.75402	1.51-39.58
Creatinina (μmol/L)	110.06	71.03	0 – 8
Bilirrubina (mg /dl)	0.21	0.59	0.14-1.56
ASAT (U/L)	115.8675	41.85739	48.21-192.87
ALAT (U/L)	11.2880	9.71925	4.29-37.50

Leucocitos Agranulares

Monocitos: Se presentan con un núcleo cerebriforme, que se tiñó de color violeta –azulado. Presento una proporción 2:1 en relación al citoplasma y este es de color gris azulado. (Ver figura 3D)

Linfocitos: Se observaron redondos, ovalados y en muchas ocasiones de forma irregular, moldeándose a la forma de las células cercanas. La cromatina finamente distribuida de coloración violeta pálido y ocasionalmente fuerte. El citoplasma generalmente escaso se observó de color azul claro a violeta (Ver figura 3E).

Eritrocitos: En cuanto a la morfología, los eritrocitos observados en esta investigación para esta especie presentan en general una forma elíptica, el citoplasma se llega a observar uniforme,

en algunos casos, en general la distribución no es homogénea, siendo más denso en algunas zonas (Ver figura 3F).

Conclusiones

La investigación constituye una línea base para el país con alta relevancia para evaluación de poblaciones de tortugas marinas bajo un enfoque biológico a partir de muestras sanguíneas.

Constituye la única investigación completa a nivel mundial con el Perfil General de hematología y bioquímica sanguínea de *Lepidochelys olivacea*, y el segundo en relación de las demás especies de tortugas marinas; según bibliografía que se indagó.

Tercer estudio hematológico realizado a nivel mundial en hembras anidantes.

Para El Salvador, podemos decir que factores aún no determinados, están generando datos con variaciones dentro del perfil renal de las tortugas marinas, esto deben ser tomados en cuenta para un análisis a profundidad; ya que podría indicarnos una alteración en los hábitos alimenticios y el ecosistema de la tortuga marina que podría llevar a un declive de sus poblaciones.

Los resultados de los diversos parámetros sanguíneos evaluados en esta población pueden ser tomados como valores de referencia preliminares para la especie, a la espera de nuevos estudios que contemplen la variación debida a factores como sexo, edad y estado fisiológico, entre otros.



Figura 1: Proceso del desarrollo de la investigación: A-Evaluación física de la hembra anidante de la especie *Lepidochelys olivacea* (Tortuga Golfina), B-Obtención de la muestra sanguínea, C- Separación del suero de la muestra sanguínea, D- Identificación y recuento diferencial de globulosa blancos.

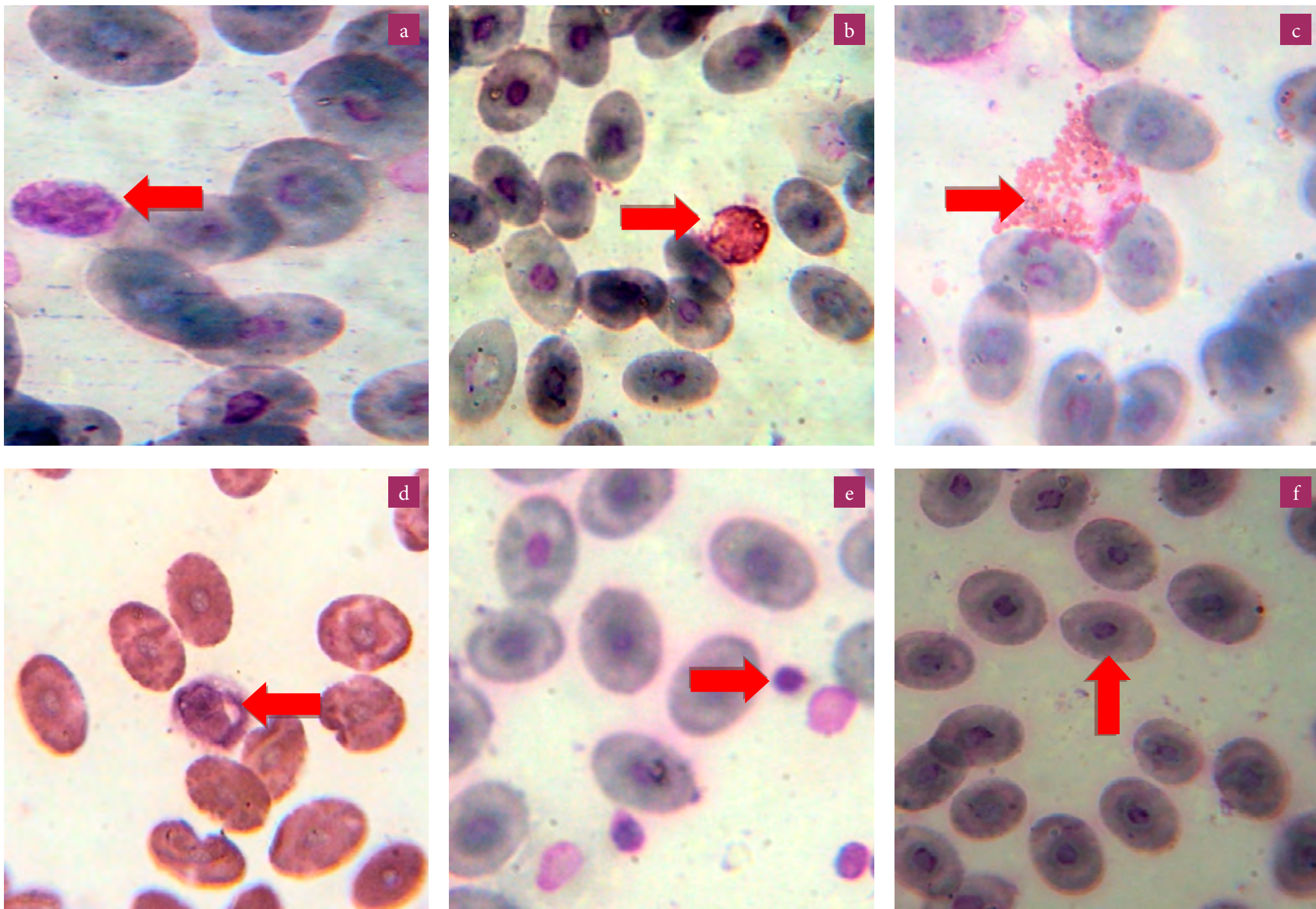


Figura 3: Fotomicrografía de las células presentes en el frotis sangre periférica tortuga golфина (*L. olivacea*) teñidos con tinción Wright. a- Basófilo; b- Eosinófilo; c- Heterófilos; d- Monocito; e- Linfocito; f- Eritrocito.



Bibliografía

- Bergeron, C. M., J. E. Husak, J. M. Unrine, C. S. Romanek Y W. A. Hopkins (2007). "Influence Of Feeding Ecology On Blood Mercury Concentrations In Four Species Of Turtles." *Environ Toxicol Chem* 26(8): 1733-1741.
- Corsatur. 2004. Departamento De La Libertad. Información Digital Disponible En La Web: [Http://www.elsalvadorismo.gob.sv/Lalibertad.htm](http://www.elsalvadorismo.gob.sv/Lalibertad.htm)
- Lowel, A. Diagnostics Procedures: Hematology. The Biology, Husbandry And Health Care Of Reptiles. Vol Iii. T.F.H. Publications, Inc. United States Of America. 703-713 Pp. 1998.
- UICN 2010. *Lepidochelys Olivacea*. Red List Of Threatened Species. Version 2010.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded On 7 April 2011.
- Santoro M. & Meneses A. (2003) Hematología y química del Plasma de la tortuga del mar Golfina *Lepidochelys Olivacea*. Publicación De Veterinary Record Bmj. Com Volumen 161. Pág.818-819. Visitado 20 Abril, 2011. Disponible En: [Http://veterinaryrecord.bmj.com/content/161/24/818](http://veterinaryrecord.bmj.com/content/161/24/818)
- Vásquez M, Liles M, López W, Mariona G, Segovia J (2008) Tortuga Marina Boletín 85: 7-9 Sea Turtle Research And Conservation, El Salvador. [Funzel-icmares/u.es](http://funzel-icmares/u.es), San Salvador, El Salvador
- Voigth L. Greeg. (2000). Conceptos Y Técnicas Hematológicas Para Técnicos Veterinarios. De La Edición En Lengua Española Editorial Acribia, S.A., Apartado 466 50080 Zaragoza (España)
- Agradecimientos: Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).



Mosca de la Familia Muscidae atrapada en los queliceros de un Salticido.
Santa Ana, El Salvador.

Los Salticidos llamados con frecuencia arañas saltadoras, saltarinas o caza moscas, deben su nombre a los saltos largos que realizan, pueden llegar a ser hasta 50 veces su tamaño, a pesar que no poseen músculos en sus patas, realizan saltos muy precisos en cualquier dirección.

Es común encontrarlas en las casas de habitación, conviviendo con los seres humanos, siendo un control biológico para ciertos tipos de plagas. Son totalmente inofensivas para el género humano.

Bióloga Rosa María Estrada H.
Fotografía y texto