

ALGUNAS OBSERVACIONES EN SANGRE DE LA TORTUGA TERRESTRE  
ARGENTINA.

por

Juan Carlos Troiano  
Enrique Horacio Vautier

CUADERNOS DE HERPETOLOGIA VOLÚMEN 2, NÚMERO 1, ABRIL 1986.  
ASOCIACION HERPETOLOGICA ARGENTINA

EDITOR. JORGE D. WILLIAMS  
COEDITORES. SILVIA I. PERI Y NESTOR G. BASSO  
DIBUJO DE TAPA. GUSTAVO CARRIZO

## ALGUNAS OBSERVACIONES EN SANGRE DE LA TORTUGA TERRESTRE ARGENTINA

Juan Carlos Troiano\* y  
Enrique Horacio Vautier\*

RESUMEN

Se describen las observaciones hechas en sangre de 30 ejemplares de tortuga terrestre argentina (Geochelone chilensis), discutiendo la técnica adecuada para la toma de muestras de sangre. Además, se evalúan parámetros de química hemática y se detalla la morfología de las diferentes series celulares, comparando los datos obtenidos con especies exóticas afines.

SUMMARY

It is described the observations made in blood from 30 specimens of argentine terrestrial turtle (Geochelone chilensis), discussing the adequate technique from blood sampling.

Moreover it is evaluated blood chemistry parameters and it is detailed the morphology of the diferents cells series, compared the dates with related exoctic species.

---

\* Jardín Zoológico de Buenos Aires  
República de la India 2900,  
(1425) Capital Federal  
Argentina.

## INTRODUCCION

El estudio de la sangre reptiliana ha quedado relegado en relación a la hematología comparada de los demás vertebrados. Los estudios realizados han sido incompletos, ya que se trataba bien de pocos ejemplares o una variedad de reptiles muertos en diferentes estadios de su ciclo anual y pertenecientes a una muy diversa sistemática.

Hay aspectos que aún no se han estudiado en profundidad, por ejemplo, la determinación de las distintas progenies celulares, y sólo se han descrito aspectos relacionados con la morfología y número de células maduras circulantes.

Unido a esto nos encontramos con la escasa información publicada en el país sobre el tema, que ha sido referida en profundidad en el campo de la medicina humana y no en medicina veterinaria o ciencias biológicas. En el exterior se han estudiado exhaustivamente, como el caimán norteamericano (Alligator mississippiensis), y dentro de los quelonios como la tortuga caja (Terrapene carolina) y la tortuga de agua (Pseudemys scripta elegans).

El presente trabajo establece los primeros informes sobre los valores hematológicos de una especie autóctona de quelonio.

## OBJETIVOS

- a) Descripción de una técnica adecuada para la toma de muestras sanguíneas en quelonios testudinidos;
- b) Información preliminar sobre algunos valores hemáticos de Geochelone chilensis, tortuga terrestre común de nuestro país.

## MATERIALES

Se trabajó sobre treinta ejemplares de Geochelone chilensis (Chelonia-Testudinidae) de distinto sexo, talla y edad, en idénticas condiciones de ali-

mentación y ambiente. La toma de muestras se realizó a lo largo de los meses de junio y julio de 1985.

#### METODOLOGIA

##### a) Toma de muestras:

Toda técnica para la obtención de muestras de sangre debe reunir una serie de condiciones para considerarla ideal. Podemos citar que sea rápida, sencilla, que no represente riesgos para la vida del animal y que el volumen obtenido permita la realización de todos los exámenes de rutina.

La literatura cita una variedad de técnicas para la extracción de sangre de los quelonios. Se intentaron tres y se estableció cuál es la más correcta (Frye, 1977; Gandall, 1977; Marcus, 1981; Richter, 1977).

1ra.- Punción de la región axilar: es una técnica sencilla, pero sus desventajas no la hacen aconsejable. Se obtiene un escaso volumen, muy contaminada, posibilidad de perforación de pulmones, y si el animal retrae los miembros se hace difícil la toma de muestras (Roskopff, 1982).

2da.- Punción cardíaca a través de los miembros anteriores: el sitio de punción es entre los miembros anteriores por debajo del cuello. La muestra obtenida es de un volumen adecuado, sin contaminación, pero la vida del animal corre riesgos ya que es posible la perforación pulmonar o la sección de las venas cava o la aorta. Debemos mencionar que si el animal se retrae en su caparazón la técnica no se podrá llevar adelante (Roskopff, 1982).

3ra.- Punción cardíaca a través del plastrón: el lugar de abordaje del corazón es a nivel del plastrón, en la unión de la segunda sutura media. La técnica es sencilla, se obtiene una muestra adecuada en cuanto a condiciones de asepsia y volumen, no corre riesgo la vida del animal y es posible realizarla aún con la tortuga retraída en su caparazón (Richter,

1977; Gandall, 1977).

En ejemplares de gran tamaño puede ser necesaria la perforación previa del sitio de punción, debido al grosor del plastrón.

Todas las técnicas descritas deben respetar los requisitos de antisepsia local.

b) Volumen de la muestra

De cada animal fueron extraídos 3 cc. de sangre por medio de una jeringa descartable de 5 cc, unida a una aguja de acero inoxidable 25/8. Ese volumen se depositó en partes iguales en dos tubos de vidrio, uno de ellos conteniendo 0,001 cc de Heparina. Se decidió el uso de la Heparina luego de intentar con los anticoagulantes como EDTA cálcico o citratos, debido a que éstos alteran la forma globular (Dessauer, 1982).

c) Manejo de la muestra

Se realizaron determinaciones en sangre entera y en suero sanguíneo.

Determinaciones en suero sanguíneo:

- a) Determinación de úrea: método fotocolorimétrico enzimático, reacción Belthelot, desdoblamiento con ureasa.
- b) Determinación de proteínas totales: fotocolorimetría para proteínas totales con el método del Biuret.

Determinaciones en sangre entera:

- a) Determinación de glucosa sanguínea: tira reactiva para la determinación debe ser hecha antes de 45 minutos, ya que pasado este tiempo las enzimas sanguíneas actúan y se disminuyen los valores.
- b) Hemoglobina: fotocolorimetría por el método del hemoglobincianuro.
- c) Volumen globular: técnica del microhematocrito.
- d) Contaje de glóbulos rojos: por medio de pipeta y diluyente de glóbulos para luego contar en cámara de Neubauer.
- e) Fórmula leucocitaria relativa: confección de frotis y tinción de los mismos con la técnica pancromática de May-Grünwald & Giensa.

La determinación de la fórmula leucocitaria absoluta no se pudo llevar a cabo debido a que la técnica utilizada en hematología de mamíferos no se ajusta. (Duguy, 1982).

### RESULTADOS

Los niveles de volumen globular, hemoglobina, glucosa, proteínas totales y úrea se comparan en el siguiente cuadro con cuatro especies no autóctonas. Los valores de *Geochelone chilensis* son el promedio de los 30 ejemplares.

	Volumen Globular	Hemoglobina grs.%	Proteínas grs.%	Glucosa mgrs.%	Úrea mgrs.%
<u>Testudo hermanni</u>	28	-	-	-	78
<u>Testudo kleinmanni</u>	27	-	6,6	-	-
<u>Terrapene carolina</u>	28	5,9	4,5	36	30
<u>Gopherus agassizi</u>	23-27	-	2,2-5,0	30-150	1-30
<u>Geochelone chilensis</u>	22-23	11,45	4,3	49	26,47

T.hermanii, T.kleinmanni y T.carolina: Carl Gans, Biology of the Reptilia, 1982; Gopherus agassizi: Roskopff VM/SAC, 1982.

CUADRO I.

	<u>Geochelone pardalis</u>	<u>Gopherus agassizi</u>	<u>Geochelone chilensis</u>
Glóbulos rojos	362.000-730.000	1.200.000:3.000.000	215.000-1.630.000
Basófilos %	4,6	2-15	0-6 (1,9)
Heterófilos %	3,2	35-60	7-27 (13,75)
Eosinófilos	58	0-4	21-61 (42,35)
Neutrófilos	-	0-3	0-21 (10,35)
Linfocitos	29,8	25-50	10-41 (25,35)
Monocitos	2,0	0-4	0-14 (5,5)

Geochelone pardalis: Carl Gans, Biology of the Reptilia, 1982.  
Gopherus agassizi: Roskopff - VM/SAC, 1982

CUADRO II - Fórmulas leucocitarias relativas y Contaje de glóbulos rojos.

### Morfología de células circulantes

En el año 1962 un autor sudafricano (Binear) clasificó las células sanguíneas maduras circulantes de la siguiente manera:

- I. Glóbulos rojos o eritrocitos
- II. Leucocitos granulocitos:
  - a) Basófilos
  - b) Eosinófilos
  - c) Heterófilos o azurófilos
  - d) Neutrófilos
- III. Linfocitos
- IV. Monocitos
- V. Plaquetas o trombocitos

Para mantener un orden se describirán las células maduras de acuerdo a esta clasificación:

Glóbulos rojos: Los eritrocitos circulantes son células nucleadas, ovales, de bordes redondeados, con un diámetro que oscila entre 11 y 17  $\mu$ . Su núcleo es también oval, más o menos regular, localizado centralmente, con cromatina visible o no de acuerdo a la edad de las células normales se presenta de color rosado o naranja pálido, mientras que en las formas seniles desaparece el citoplasma o se ve muy claro. Estas formas seniles son de mayor tamaño, núcleo picnótico y pueden confundirse con las plaquetas; en los estadios finales desaparece el citoplasma y sólo es visible el núcleo.

Es común encontrar algunas formas anormales como glóbulos rojos con dos núcleos. La patología o el significado de estas formas aún se discute y se sospecha la posibilidad de que se produzca una división mitótica del eritrocito en la circulación. Otra alteración común es el plegamiento de uno de los extremos, configurando un glóbulo llamado "Flap Jack" - (Saint-Girons, 1982).

Son frecuentes los hallazgos de hemoparásitos endocelulares, pertenecientes a los géneros Haemogregarina y Hepatozoon, los cuales aparecen

en forma fusiforme dentro de la célula, deformándola y desplazando su núcleo a la periferia o a uno de los lados.

Glóbulos blancos:

Granulocitos basófilos: Esta célula es de escasa aparición en los frotis sanguíneos del género *Geochelone*; es de forma redondeada, citoplasma coloreado por gránulos de color azul o violeta, que ocultan por completo al núcleo y le dan a la célula un aspecto semejante a una mora. Deben ser diferenciados de los azurófilos o heterófilos; éstos presentan un núcleo excéntrico y visible, con gránulos de diferente forma, mientras que el núcleo central del basófilo queda oculto por gránulos redondeados de color violeta.

Granulocitos eosinófilos: Células nucleadas, redondeadas, de tamaño variable, núcleo excéntrico, poco lobulado y teñido de color azul o violeta. El citoplasma presenta gránulos de forma redondeada o alargada, regulares, de color marrón amarillentos, más o menos brillantes. Pueden ser hallados solos o agrupados y en aquellos animales que sufren parasitosis hemática su número se incrementa hasta encontrar valores como 61% de los glóbulos blancos totales (Saint-Girons, 1982).

En ocasiones estas células se presentan con su citoplasma de color blanquecino o con escasos gránulos, esto se debe a estadios de stress o enfermedades sistemáticas.

Granulocitos heterófilos o azurófilos: Aparecen en la sangre de reptiles y de aves, y por mucho tiempo se los confundió con los neutrófilos. Con la tinción de MGG aparecen como formas redondeadas, de tamaño variable, núcleo excéntrico y citoplasma ocupado por gránulos de distinta forma y de coloración variable.

Deben diferenciarse de los eosinófilos. Estos últimos presentan gránulos de tamaño uniforme y color amarillento o marrón, mientras en el heterófilo son irregulares y de coloración variable.



Granulocitos neutrófilos: Por mucho tiempo se pensó que este tipo de células estaba ausente de la sangre de los reptiles y su función la cumplirían los heterófilos y los eosinófilos. (Grassé, 1970).

Con la tinción de MGG se presenta como una célula redondeada de gran núcleo, no lobulado (recuerda a la anomalía hereditaria de Pelger, de los mamíferos), localizado centralmente, de color azul oscuro, citoplasma celeste pálido, finamente granular.

En los casos de enfermedades infecciosas generalizadas, septicemia, estas células aumentan de tamaño y su citoplasma se torna espumoso o "foamy", visible en forma de gotitas más claras en el citoplasma (Frye, 1978).

Linfocitos: Similar en su morfología a los de mamíferos: una célula redondeada, con un núcleo azul de gran tamaño, generalmente con una pequeña escotadura en sus bordes. El citoplasma es escaso, en forma de medialuna de color más pálido, que rodea al núcleo. Frecuentemente sólo es visible el núcleo de forma redondeada.

Monocitos: Su reconocimiento no plantea dificultades, es semejante en morfología y coloración a los monocitos de los mamíferos. Su núcleo es parcialmente lobulado, central, coloreado intensamente de violeta, citoplasma abundante, sin gránulos.

Plaquetas o trombocitos: Son difíciles de reconocer ya que su citoplasma suele desaparecer con las técnicas de coloración. Es una célula ovalada, de bordes redondeados, núcleo muy cromófilo, localizado centralmente, citoplasma escaso, muy pálido y finamente granulado.

### CONCLUSIONES

- I. La técnica más adecuada para la extracción de una buena muestra sanguínea es a través del plastrón por punción cardíaca.
- II. Las técnicas hematológicas utilizadas rutinariamente en mamíferos, se pueden aplicar en el estudio de la sangre reptiliana, a excepción del conteo total de glóbulos blancos.
- III. Este conteo no se puede realizar por la técnica usual debido a la presencia de glóbulos rojos nucleados.

### DISCUSION

Consideramos que el trabajo es incompleto y deben agregarse datos sobre un mayor número de ejemplares, pero como informe preliminar de los valores normales puede tomarse como base.

En un futuro se agregarán datos de enzimas hepáticas (GPT - GOT - LDH), Creatinina, Colesterol y Proteinograma electroforético en un número idéntico de individuos.

### AGRADECIMIENTOS

Al señor Alejandro Colussi, Clínica Veterinaria - Doctor Jorge Triulzi, y a las Srtas. Myriam Berensztein y Lola Bejarano por su colaboración.

BIBLIOGRAFIA

- DESSAUER, H., 1982 - Blood chemistry values of reptiles: Physiological and evolutionary aspects. En Carl Gans (Ed.), Biology of the Reptilia, 3(1), New York, Academic Press.
- DOWLING, H. y DUELLMANN, W., 1978. Systematic Herpetology - A sinopsis of families and higher categories. Hiss Publications, New York.
- DUGUY, R., 1982 - Number of blood cells and their variations. En Carl Gans (Ed.), Biology of the Reptilia, 3(2), Academic Press, New York.
- FRYE, F.L., 1977 - Hematology in captive reptiles, with emphasis on normal morphology. Kirk, Current's in Veterinary Therapy, pp. 792-798, VI-WB Saunders Co., Philadelphia.
- FRYE, F.L., Fowler, M., 1978 - Zoo and wild animal medicine, pp: 146-151, WB. Saunders Co., Philadelphia.
- GANDALL, C.P., 1977 - A practical method of obtaining blood from anesthetized turtles by means of a cardiac puncture. Zoologica NY, 43:93-94.
- GRASSE, P.P., 1970 - Trateé de Zoologié, Vol. II Reptiles. Masson et Cié Ed.
- MARCUS, L., 1975 - Veterinary Biology and Medicine of captive amphibians and reptiles. Lea & Febiger, Philadelphia, 1981.
- RICHENBACK, KLINKE and ELKAN, 1975 - The Princioal Diseases of Lower Vertebrates. New York, Academic Press.
- RICHTER, A.G., 1977 - Techniques for collecting blood from Galápagos Tortoises and Box Turtles. Veterinary Medicine - Small Animal Clinician, Vol. 72: 1376-1378.
- ROESKOPF, W., 1982 - Normal Hemogram and blood chemistry values for California Desert Tortoise. Veterinary Medicine - Small Animal Clinician. Vol. 87: 85-87.
- SAINT-GIRONS, M.C., 1982 - Morphology of the circulating blood cells. En Carl Gans (Ed.). Biology of the Reptilia, 3(3), Academic Press, New York.