UNIVERSIDAD DE CIENCIAS COMERCIALES

SEDE CENTRAL MANAGUA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.

Trabajo de Graduación

Para Optar al Título de Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia

Hallazgos hematológicos encontrados en *Rhinoclemmys pulcherrima manni* en el Zoocriadero FAUMARNICA, Granada, Nicaragua, octubre-noviembre del 2023

Sustentantes

- Br. Clara Bello Briceño

- Br. Karla Vásquez Porras

Asesor/Asesores

Dra. Ligia Hernández Salgado PhD M.V

Managua, Nicaragua, mayo del 2024

AGRADECIMIENTOS

Le agradecemos principalmente a Dios todo poderoso por ser el autor de nuestras vidas y por permitirnos llegar hasta este día que es muy importante para nosotras. Y por ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Nuestros padres promotores de nuestros sueños, por confiar y creer en nosotras, por los consejos, valores y principios que nos han inculcado.

Agradecemos a nuestros docentes que hemos tenido en todo el transcurso de nuestra carrera, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de nuestra profesión.

Agradecemos a nuestra Tutora la Dra. Ligia Hernández Salgado y a la Dra. Cristina Madelein Toledo y. Por su ayuda, paciencia y apoyo que nos brindaron durante todo este tiempo, junto a su guía en cada paso del desarrollo de nuestra tesis.

Clara Bello Briceño y Karla Vásquez Porras

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
AGRADECIMIENTOS	i
ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE IMAGENES	vi
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	2
2.1.Objetivo General	2
2.2.Objetivo Específicos	2
III. HIPÓTESIS	3
3.1.Hipótesis Afirmativa	3
3.2.Hipótesis Nula	3
3.3.Hipótesis Alternativa	3
IV. MARCO DE REFERENCIA	4
4.1.Características generales de la *Rhinoclemmys pulcherrima* manni	4
4.1.1. Subespecies	4
4.1.2. Distribución y Habitad	4
4.1.3. Morfología	5
4.1.4. Dimorfismo sexual	5
4.1.5. Alimentación	5
4.1.6. Reproducción	5
4.2.Hematología y componentes sanguíneos	5
4.2.1. *Plasma*	6
4.2.2. Proteínas totales	6
*4.2.3. H*ematocrito	6
4.2.4. Hemoglobina	7

4.2.5. Eritrocitos 7
4.2.6. Trombocitos 7
4.2.7. Leucocitos 7
4.2.8. Heterófilos 8
4.2.9. Eosinófilos 8
4.2.10. *Basófilos* 8
4.2.11. Linfocitos 8
4.2.12. Monocitos 8
4.2.13. índice eritrocitario 10
4.3.Factores afectan a los parámetros hematológicos 10
4.4.Vías anatómicas de venopunción 10
4.4.1. Punción de la vena yugular 11
V. MATERIALES Y METODO 11
5.1.Ubicación del área de estudio 11
5.2.Tipo de investigación 12
5.3. Diseño metodológico 12
5.3.1**.** Criterios de Inclusión 12
5.3.2. Fase de campo 12
5.3.2.1. Extracción de muestra 13
5.3.2.2. Volumen sanguíneo 13
5.3.2.3. Transporte de muestras 13
5.3.3.1. Hematocrito 14
5.3.3.2. Plasma 14
5.3.3.3. Proteínas totales 15
5.3.3.4. Hemoglobina 15
5.3.3.5. Conteo eritrocitario y leucocitario 16
5.3.3.6. Índice eritrocitario 17
5.3.3.7. Trombocitos 17
5.3.3.8. Diferencial de leucocitos 18
5.3.3.9. Evaluación morfológica celular 19
5.4.Variables a Evaluar 19

5.4.1. Recolección de datos 20
5.4.2. Análisis de Datos 20
5.5.Materiales y equipos 20
5.5.1 Biológicos 20
5.5.2. Físicos (insumos o consumibles) 21
5.5.3 Químicos y Reactivos 21
5.5.4. Material de laboratorio y equipos 21
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 22
6.1. La determinación de los valores hematológico 22
6.2. Morfología de las células sanguíneas 25
VII. RECOMENDACIONES 32
6.2.1. Eritrocito 26
6.2.2. Heterófilo 27
6.2.3. Basófilo 28
6.2.4. Eosinófilo 29
6.2.5. Linfocito 30
6.2.6. Monocito 31
6.2.7. Trombocitos 32
6.2.8. Propuesta de parámetros 35
VII. CONCLUSIONES 36
VII. RECOMENDACIONES 37
VIII. LITERATURA CITADA 38
IX. ANEXOS 44

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1.Clasificación taxonómica	4
2. Funciones de las diferentes células sanguíneas	9
3.Criterios de inclusión y exclusión	12
4. *Variables*	19

ÍNDICE DE IMAGENES

ÍMAGENES	PÁGINA
1.Ubicación del área de estudio	11
2.Eritrocitos (100X)	26
3.Heterófilos (100X)	27
4.Basófilo (100X)	28
5.Eosinófilo (100X)	29
6.Linfocitos (100X)	30
7.Monocito (100X)	31
8.Trombocito (100X)	32
9. Propuesta	35

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
1.Valores hematológicos obtenidos de la tortuga de la especie *Rhinoclemmys pulcherrima manni* (n=50)	22
2.Medidas obtenidas de las células sanguíneas de las tortugas R. pulcherrima manni	33
3.Datos del estudio estadístico.	34

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXOS	PÁGINA
a. Localización y extracción de la vena yugular	44
b. Pasos del Kit Natt- Herrick	45
c. Diferenciación entre Leucocitos y eritrocitos en la cámara de Neubauer	46
d. Medidas obtenidas de las células sanguíneas	47
e. Valores hematológicos obtenidos medidas convencionales	48
f. Valores hematológicos obtenidos medidas internaciones	49
g. Alteraciones patológicas del hemograma general	50
h. Alteraciones fisiológicas en el hemograma general	51
i. Hoja de datos de Excel	52
j. Entrevista al dueño del zoocriadero	53
k. Determinación del Índice corporal	54
l. Código Qr documento académico	55

RESUMEN

Las tortugas son mascotas que cada vez son más comunes, al igual que las otras especies deben someterse a exámenes clínicos, tales como el hemograma para poder dar un mejor diagnóstico y determinar su estado de salud del animal. Al ser el primer estudio en esta especie a nivel Nacional, el objeto de este estudio fue establecer parámetros hematológicos para las tortugas *Rhinoclemmys pulcherrima manni* en ambientes controlado al cuidado del ser humano en la región del pacífico de Nicaragua dado que se dan ciertas condiciones similares desde el punto de vista climatológico y de conservación de las mismas por lo que los valores son aplicables para esta región, el diseño metodológico es de Corte transversal de tipo descriptivo de enfoque cuantitativo. Se trabajó con una población de 50 adultas (25 hembras y 25 machos). Se determinaron los índices promedio en relación a los eritrocitos 0.13 – 2.1 x 10^6/µL, hemoglobina 2.66 – 13.66 g/dL, hematocrito 8 – 41 %, VCM 111 – 800 fL, CHCM 33.3 - 33.3 g/dL, HCM 15.6 - 641 Pg, trombocitos 12000 - 33000 µL, proteína plasmática 2.7- 11 g/dL, el color del plasma fue de amarillo pálido, en los leucocitos 8.4 – 26.2 x 10^3/ µL, heterófilos 26 – 46 %, linfocitos 20 -36 %, monocitos 3-19 %, basófilos 4 – 11 %, eosinófilos 4 – 26 %, los trombocitos son de 31,500 a 52,500 µL, se realizó la conversión de unidades de medidas al sistema convencionales. Los resultados tienen un nivel de similitud con otros valores documentados en otras especies de tortugas, así como la descripción de la morfología de las células sanguíneas encontradas, los eritrocitos con un tamaño promedio de (18.60 largo – 10.00 ancho) µm, heterófilos (11.40 largo – 10.30 ancho) µm, eosinófilos (12.60 largo – 10.40 ancho) µm, basófilos (10.90 largo – 10.40 µm ancho), linfocitos (5.60 largo – 5.30 µm ancho), monocitos (11.30 largo– 10.40 ancho) µm y el trombocito con una medición morfológica media de (3.90 largo y 3.70 ancho) µm. Con este estudio logramos establecer parámetros hematológicos para la especie *Rhinoclemmys pulcherrima manni* de la región del pacifico o de lugares del país que compartan condiciones ambientales similares y puedan ser utilizadas para la práctica del médico veterinario en la clínica y en la conservación de esta especie.

Palabras claves: Tortuga, Hematología, morfología celular

ABSTRACT

Turtles are pets that are becoming more and more common and, like other species, they should undergo clinical examinations, such as hemogram to be able to give a better diagnosis and determine the animal's state of health. Since this is the first study on this species at the national level, the objective of this study was to establish hematological parameters for Rhinoclemmys pulcherrima manni turtles in controlled environments under human care in the Pacific region of Nicaragua, given that certain similar conditions exist from a climatological and conservation point of view, and therefore the values are applicable to this region. We worked with a population of 50 adults (25 females and 25 males). Average indices were determined in relation to erythrocytes 0.13 - 2.1 x 10^3/ µL, hemoglobin 2.66 - 13.66 g/dL, hematocrit 8 - 41 %, VCM 111 - 800 fL, CHCM 33.3 - 33.3 g/dL, HCM 15.6 - 641 Pg, thrombocytes 12000 - 33000 µL, plasma protein 2. 7- 11 g/dL, plasma color was pale yellow, in leukocytes 8.4 - 26.2 x 10^3/ µL, heterophils 26 - 46 %, lymphocytes 20 -36 %, monocytes 3-19 %, basophils 4 - 11 %, eosinophils 4 - 26 %, thrombocytes are 31,500 - 52,500 µL, conversion of units of measurements to conventional system was performed. The results have a level of similarity with other values documented in other turtle species, as well as the description of the morphology of the blood cells found, erythrocytes with an average size of (18.60 long - 10.00 wide) µm, heterophils (11. 40 long - 10.30 wide) µm, eosinophils (12.60 long - 10.40 wide) µm, basophils (10.90 long - 10.40 µm wide), lymphocytes (5.60 long - 5.30 µm wide), monocytes (11.30 long - 10.40 wide) µm and thrombocyte with an average morphological measurement of (3.90 long and 3.70 wide) µm. With this study we were able to establish hematological parameters for the species Rhinoclemmys pulcherrima manni from the Pacific region or from places in the country that share similar environmental conditions and can be used for the practice of the veterinarian in the clinic and in the conservation of this species.

Key words: Turtle, Hematology, cellular morphology.

1. INTRODUCCION

Los Quelonios deben realizarse chequeos regulares para determinar el estado de salud del animal y su bienestar, por lo que deben someterse a exámenes clínicos, tales como el hemograma para que el Médico Veterinario pueda dar un mejor diagnóstico.

A nivel clínico, la calidad de la muestra sanguínea se convierte en un factor determinante para obtener información confiable a partir de las pruebas de laboratorio; sin embargo, obtener muestras sanguíneas en tortugas puede ser complicado, debido a variaciones anatómicas entre especies, la presencia de estructuras dérmicas de protección como caparazón y escamas, la dificultad de manipulación debido a la fuerza de los individuos, la difícil localización y visualización de venas y senos venosos y la proximidad de los sitios de venopunción a diferentes vasos linfáticos, Rodríguez, Vargas-León et al. (2022).

La evaluación hematológica de rutina de los reptiles incluye la determinación de células, concentración de hemoglobina (Hb), recuento de glóbulos rojos (RBC), recuento total de glóbulos blancos (WBC), recuentos diferenciales de leucocitos y evaluación de la morfología de las células sanguíneas, Stacy, Alleman et al. (2011).

“La presencia de enfermedades y el conocimiento de su fisiología y de aspectos relacionados con su alimentación o hábitat en condiciones naturales, es indispensable para mantener en condiciones óptimas a los reptiles” (Barragan, 2002, p.18).

La evaluación del frotis sanguíneo es una parte fundamental de la hematología, aunque la gran variación morfológica entre especies y la falta de bibliografía al respecto puede dificultar su interpretación en animales exóticos (Vilalta, 2021), el presente estudio buscara establecer parámetros o rangos de referencia al igual que la descripción de la morfología célular de la especie *Rhinoclemmys pulcherrima manni* y esta pueda ser utilizada en la práctica clínica del Médico Veterinario Nicaragüense.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Proponer una propuesta de parámetros hematológicos de referencia para la especie *Rhinoclemmys pulcherrima manni.*

2.2. Objetivo Específicos

Calcular los valores hematológicos para referencia en la tortuga *Rhinoclemmys pulcherrima manni.*

Describir morfológicamente las células sanguíneas encontradas en *Rhinoclemmys pulcherrima manni.*

Describir los resultados hematológicos de acuerdo al sexo.

III. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis afirmativa

Se encontró variaciones en los valores de los eritrocitos, leucocitos y heterófilos entre las hembras y los machos.

3.2. Hipótesis Nula

No se logró establecer parámetros hematológicos para la especie estudiada.

3.3. Hipótesis alternativa

Se logró establecer parámetros hematológicos solamente para la serie roja. Sin distinción morfológica de eritrocitos inmaduros.

IV. MARCO DE REFERENCIA

4.1. Características generales de la *Rhinoclemmys pulcherrima manni*

Las tortugas son reptiles ya que están clasificados en el orden *Testudines* dentro de la clase Reptilia. Caracterizados por un caparazón óseo, a veces con áreas extensas de cartílago flexible que encierra el cuerpo. (Kolby, 2021, p. 4)

Cuadro 1
Clasificación taxonómica

Reino	*Animalia*
Filo	*Chordata*
Clase	*Reptilia*
Orden	*Testudines*
Familia	*Geoemydidae*
Género	*Rhinoclemmys*
Especie	*R. pulcherrima*

Nota: Taxonomía de Rhinoclemmys pulcherrima. Fuente: Naturalistaco (s. f)

4.1.1. Subespecies

El género *Rhinoclemmys* está formado por 9 especies distintas y 4 subespecies: *Rhinoclemmys pulcherrima incisa*, *Rhinoclemmys pulcherrima manni, Rhinoclemmys pulcherrima pulcherrima* y *Rhinoclemmys pulcherrima rogerbarbouri*. Siendo la subespecie *Rhinoclemmys pulcherrima manni* la más frecuente en cautividad de este género (Gbif, 2024).

4.1.2. Distribución

La especie *Rhinoclemmys pulcherrima manni* habita desde México hasta Costa Rica, se la ha encontrado en la vertiente del Pacífico incluyendo la Reserva de Biósfera Isla de Ometepe (HerpetoNica 2015, p.422), aunque la mayoría de las veces se la ve en tierra, en épocas de sequía se lanza al agua (Leenders, 2001, p.60).

4.1.3. Morfología

La coloración es variable según la subespecie, se distingue por una línea roja o anaranjada con finos bordes negros, que delinea su cabeza, cuello y extremidades, el macho alcanza un caparazón de 16 cm. y la hembra hasta 20 cm. de largo. El caparazón es liso en los ejemplares juveniles y rugoso en los adultos, donde muestra marcas en forma de ocelos, con líneas rojas, amarillas y naranjas demarcadas por finas líneas negras, posee una quilla dorsal definida, el plastrón es de color amarillo con una zona oscura alargada en el centro. (HerpetoNica, 2015)

4.1.4. Dimorfismo sexual

El sexo se puede diferenciar fácilmente ya que los machos son más pequeños, el caparazón es más plano y la cola es más larga y ancha que las hembras y suelen tener más lejos la cloaca del caparazón (HerpetoNica, 2015, p. 421)

4.1.5. Alimentación

La dieta de *R. pulcherrima* en libertad como en cautiverio es omnívora, compuesta por “guayabas, naranjas, flores silvestres, hierbas, lombrices de tierra, insectos y peces”; en cautividad, acepta repollo, culantro, lechuga, carne picada, plátano y papaya. incluso consumen insectos tales como chinches, hormigas y cucarachas, las crías prefieren alimentarse de hojas tiernas y pequeños insectos. (Merchan, 2002, p. 253)

4.1.6. Reproducción

La *Rhinoclemmys pulcherrima*, los huevos se ponen principalmente en la estación lluviosa, entre mayo y diciembre (Leenders 2019, p. 60), normalmente huevos los entierra en el suelo o la hojarasca para protegerlos de los depredadores, los neonatos emergen entre 180 y 115 días después (HerpetoNica, 2015, p.421)

4.2. Hematología y componentes sanguíneos

La medicina de especies silvestres es relativamente nueva, creándose un gran interés por el entendimiento, farmacológicos y clínicos de la fauna silvestre; es de suma importancia ampliar los conocimientos sobre estas especies y recolectar datos tanto a nivel mundial como nacional, la información recolectada es necesaria para comprender la evolución de los procesos patológicos. Arcila, Navarro et al. (2005)

La determinación de valores hematológicos ha sido usada en quelonios para diagnosticar diferentes estados patológicos y respuesta a tratamientos de los individuos, así como para el monitoreo de la salud de animales rehabilitados previo a su liberación en vida silvestre, Montilla, Prieto-Torrez *et al* (2014).

La sangre de los quelonios contiene los siguientes tipos celulares: eritrocitos, heterófilos, basófilo, eosinófilo, linfocito, monocito y trombocito, Ramírez, Martínez et al (2012).

4.2.1. Plasma

El plasma según Sánchez (2018):

> Consiste principalmente en agua, proteínas plasmáticas, sales inorgánicas, lípidos, carbohidratos, hormonas y vitaminas, este se obtiene tomando la sangre con anticoagulante, seguido de una centrifugación, si se toma la muestra sin anticoagulante, el líquido que se obtiene tras la centrifugación se denomina suero (p.11)

4.2.2. Proteínas totales

Los sólidos totales antes como proteínas plasmáticas, hace referencia al índice de refracción que tienen los sólidos y los solutos dentro del plasma presente que se identifica atreves del refractómetro y por representación de que las proteínas son un 90-92% de estos componentes, por lo que a nivel de interpretación hablamos de proteínas y plasma, según Sink y Feldman (2003):

> El principio por el cual se utiliza el método por refractómetro, se debe al hecho de que las proteínas en una solución (plasma) causa un cambio en el índice refractivo, el cual se considera como el valor proporcional de proteínas totales (p.53)

4.2.3. Hematocrito

Determina el volumen ocupado por los hematíes contenidos en cada 100 ml de sangre, esta prueba es orientativa en situaciones de anemia. (Sánchez, 2018, p.2)

4.2.4. Hemoglobina

Es una proteína rica en hierro que se encuentra dentro de los glóbulos rojos su función es transportar oxigeno desde los pulmones a los tejidos y dióxido de carbono desde estos a los pulmones, donde se produce su eliminación. (Brandan, Aguirre et al. 2008, p.1)

4.2.5. Eritrocitos

Los eritrocitos de reptiles son células elipsoides con puntas chatas, que tienen núcleos redondos u ovoides que se encuentran en el centro de la célula y contienen cromatina densa de un color morado (Campbell, 2014, p. 24). Algunos autores citan que su tiempo de vida es de 600-800 días (Sypek y Borysenko, 1988; Frye, 1991), mientras que otros han observado viabilidades de hasta 3 años (Brace y Atland; 1955; Rodnan et al., 1957; Brace y Atland, 1962), los cuales fueron citados por (Hernandez, 2015, p.7)

4.2.6. Trombocitos

Los trombocitos se caracterizan por ser células pequeñas, elípticas o fusiformes que contienen un núcleo oval y central. El citoplasma es casi transparente, hecho importante que la diferencia de los linfocitos pequeños (Martínez-Silvestre, Lavín et al, 2011, p.139)

4.2.7. Leucocitos

Los leucocitos son las células de la serie blanca de la sangre y se conocen también como glóbulos blancos, circulan en sangre y se hallan también en el sistema linfático y tejidos, constituyendo un pilar esencial de los mecanismos de defensa del organismo. Protegen frente a infecciones y juegan un papel importante en inflamaciones y en respuestas alérgicas, se clasifican en granulocitos (heterófilo, eosinófilos y basófilos) y no granulocitos (linfocito y monocito). (Labtestsoline 2021)

4.2.8. Heterófilos

Los heterófilos son células redondeadas, núcleo su núcleo es redondo a ovalado, posicionado excéntricamente con gránulos citoplásmicos fusiformes eosinófilos (naranja o rojo); Pedrozo, Vetter et al. (2016)

4.2.9. Eosinófilos

Aunque suelen ser redondos, varían de forma con respecto a otras células, presenta gránulos eosinofílicos y núcleo lobulado de color azul más intenso que el resto de los granulocitos, su citoplasma es pálido Rodríguez, Vargas-León et al. (2022)

4.2.10. Basófilos

Según Martínez-Silvestre y Wilkinson (citado por (Hernández, 2016) los basófilos de los quelonios son esféricos con un núcleo no lobulado, raramente visible al ser ocultado por los abundantes gránulos citoplasmáticos, estos gránulos se caracterizan por su color azul oscuro y morfología esférica (p.49)

4.2.11. Linfocitos

Son células redondeadas (Martínez-Silvestre, 2011, p.113), citoplasma transparente, núcleo basófilo muy abundante que ocupa la mayoría del espacio citoplasmático (Acero, s.f.)

4.2.12. Monocitos

Tienen morfología variada de redondeada a ameboide (Martínez-Silvestre, 2011, p.138), generalmente tienen el núcleo en forma curvada, el citoplasma toma una coloración de azul, Arcila, Navarro et al. (2005)

Cuadro 2

Funciones de las diferentes células sanguíneas

Célula	Funciones
Eritrocitos	*Transporte de oxígeno a los tejidos, transporte de CO2 a los pulmones.*
Leucocitos	*Son los ejecutores de la respuesta inmunitaria. Se dividen en granulocitos o polimorfonucleares (heterófilos, basófilos, esosinófilos) y en granulocitos o mononucleares (monocitos, linfocitos.*
Heterófilo	Fagocitando bacterias y material extraño, en la inmunidad innata en respuesta a varios estímulos inflamatorios.
Linfocitos	Linfocitos B producen varios tipos de inmunoglobulinas y los linfocitos T participan en la moderación de la respuesta inmune, también pueden desarrollar actividad fagocítica.
Eosinófilos	Se relaciona con la fagocitosis de inmunocomplejos asociados a infecciones.
Basófilos	La función de basófilos en reptiles no es muy clara, son los principales responsables de la respuesta alérgica y antigénica.
Monocitos	Fagocitar y digerir partículas extrañas o material de desecho de células muertas, modulan respuesta inflamatoria (citoquinas).
Trombocitos	En la formación del trombo, coagulación sanguínea y cicatrización de heridas.

Nota: El cuadro muestra las diferentes funciones que cumplen las células sanguíneas de los reptiles, Fuente: Martínez-Silvestre (2011), Hernández (2015), vilalta (2021), Cortez (2015), ATEUVES (2022).

4.2.13. Índice eritrocitario

Según Copete-Sierra (2013):

> El VCM ofrece información sobre el tamaño promedio de los eritrocitos clasificándolos en normocitosis, microcitosis y macrocitosis. HCM es el valor promedio de la hemoglobina contenida en cada eritrocito, expresada en picogramos (pg). CHCM provee un índice de la cantidad de hemoglobina en relación al hematocrito, expresada en g/dl (p. 23, 24).

4.3. Factores afectan a los parámetros hematológicos

Existen factores que pueden afectar los parámetros hematológicos como la especie, la estación del año, el estado fisiológico (hibernación y reproducción), nutrición, estado de salud, sexo y edad y temperatura (Zhang, Gu et al 2011).

El manejo de muestras, sitio de colección de la sangre, tipo de anticoagulante utilizado, método de conteo celular, y tipo de reactivo utilizado, da una variabilidad en los valores del hemograma de los reptiles (Lozada, 2015, p.17)

4.4. Vías anatómicas de venopunción

Una ventaja de la venopunción yugular es que minimiza las posibilidades de hemodilución de la muestra con líquido linfático; cuando se diluye la sangre con una cantidad variable de líquido linfático, se puede observar como un líquido claro que entra en la jeringa.(Thrall, Robin *et al*, 2012) esto es debido a que se encuentra dos venas yugulares, una dorsal o externa y una ventral o interna, que se extienden a cada lado del cuello, adyacente con un vaso linfático cervical importante llamado tronco yugular superficial.

La vena yugular dorsal se extiende desde el borde dorsal de la membrana timpánica hasta la base del cuello, la arteria carótida se encuentra en mayor profundidad y se localiza ventralmente y paralela a la yugular. Esta arteria es dorsal al tronco linfático cervical y este a su vez es dorsal a la yugular interna o ventral, Mcarthur, Wilkinson et al (2004).

4.4.1. Punción de la vena yugular

Esto según Toriano (2013):

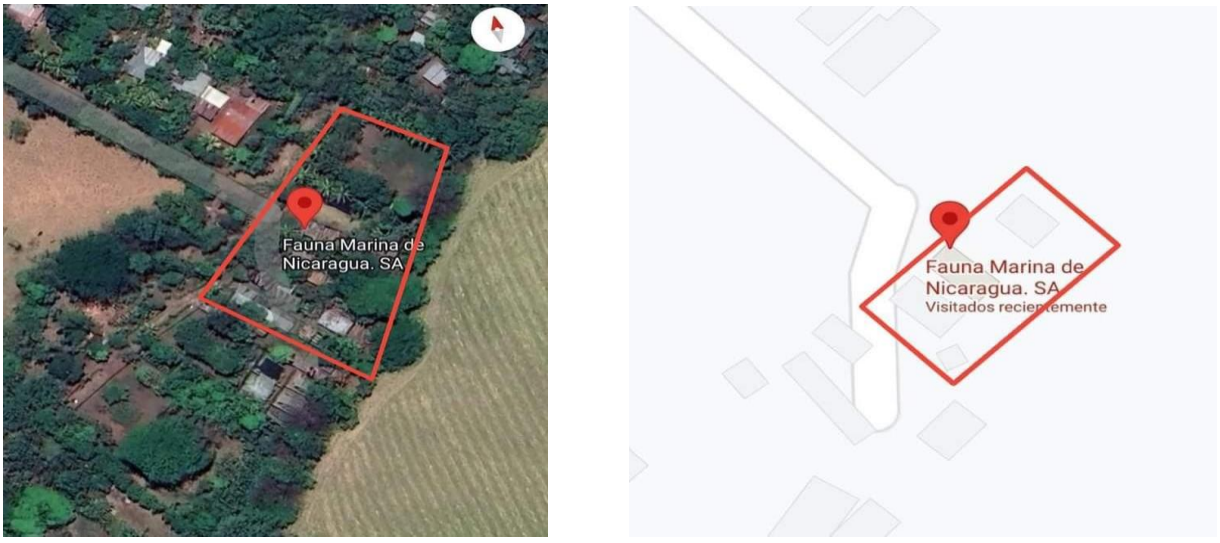
> Esta vía se utiliza sin riesgo de pinchar los vasos linfáticos, en la que se extrae la cabeza y se sostiene, luego se retira caudalmente el miembro anterior, se aplica presión en la zona de entrada del caparazón para poder exponer la vena, se flexiona el cuello dorsalmente, se coloca la aguja y jeringa paralelas a la vena y se inserta la aguja en dirección del flujo sanguíneo. (p.22)

V. MATERIALES Y METODO

5.1. Ubicación del área de estudio

Km 51 1/2 carretera Granada a Nandaime, Barrio el Hormigón, entrada al Sistema Penitenciario de Granada 300 metros al sur, 500 metros al suroeste Granada Nicaragua., Granada, Nicaragua. Coordenadas geográficas: 11.918623080481924, -85.9676333460243. El clima, es muy caliente y opresivo durante todo el año. Durante el transcurso del año, la temperatura generalmente varía de 22 °C a 34 °C y rara vez baja a menos de 20 °C o sube a más de 35 °C.

Imagen 1.
Ubicación del área de estudio Km 51 1/2 carretera Granada a Nandaime, Barrio el Hormigón



Nota: ubicación satelital del área de estudio Zoocriadero FAUMARNICA. Fuente: Google maps.

5.2. Tipo de investigación

Es de corte transversal de tipo descriptivo de enfoque cuantitativo, debido a que el propósito de la investigación está basado en la propuesta de parámetros hematológicos en la tortuga *Rhinoclemmys pulcherrima manni.*

5.3. Diseño metodológico

5.3.1. *Criterios de Inclusión*

Cuadro 3.

Criterios de inclusión y exclusión

Inclusión	Exclusión
Tortugas *Rhinoclemmys pulcherrima*, Subespecie *Manni*. Tortugas clínicamente sanas, sin lesiones o mutilaciones. Tortugas con índice corporal 3. (Ver Anexo k). Tortugas con edad de 6 a 7 años.	Pacientes con lesiones o mutilaciones. Pacientes con índice corporal < 3 y > 3 (Ver Anexo k). Pacientes enfermos o en tratamiento farmacológico.

Nota: Esta tabla muestra los criterios que se tomaran en cuenta en el momento de elegir a los pacientes. Fuente: Elaboración propia

5.3.2. *Fase de campo*

En el zoocriadero se encontraban con una población de 150 ejemplares, pero solo se tomó muestra de sangre a 50 tortugas de la especie *Rhinoclemmys pulcherrima* y subespecies *manni* las cuales cumplieron con los criterios de inclusión del presente estudio.

5.3.2.*1. Extracción de muestra*

Se procedió a desinfectar el área donde se realizará la venopunción; se extrajo sangre muestra de la vena yugular, según la técnica descrita por Toriano (2013):

> Se extrae la cabeza y se sostiene, luego se retira caudalmente el miembro anterior, se aplica presión en la zona de entrada del caparazón para poder exponer la vena, se flexiona el cuello dorsalmente, se coloca la aguja (calibre 23) y jeringa (3 ml) paralelas a la vena y se inserta la aguja en dirección de flujo sanguíneo. (p.18).

5.3.2.*2. Volumen sanguíneo*

El volumen que se extrajo fue de 0.5 ml, el cual se depositó en un tubo recolector de 0.5 ml con heparina de litio como anticoagulante" Ramos (2021)

5.3.2.3. Transporte de muestras

Las muestras se transportaron hacia el Centro de Estudio, Diagnóstico e Investigación Veterinario (CEDIVE) en UCC, Managua para su procesamiento.

> El tiempo de procesamiento óptimo para todas las muestras debe ser de un máximo de 24 horas, para lo cual es de gran importancia considerar un termo que garantice se mantenga la temperatura de 6 grados Celsius para su conservación durante todo el transporte, según Muñoz, Rendón et al. (2016)

5.3.3. Fase de laboratorio

5.3.3.1. **Hematocrito*:***

Según Sánchez (2018):

> La muestra tiene que estar a temperatura ambiente y debe ser homogeniza uniformemente, durante al menos 2 minutos o 20 veces. Se llena el capilar tomando la sangre la cual entrara por simple capilaridad, llenando aproximadamente el 80% o ¾ partes del capilar y se sella el capilar con la cera selladora. Luego se coloca el capilar en las ranuras numeradas del cabezal de la microcentrífuga; con el extremo ocluido al borde externo de la plataforma y se centrifuga el capilar a 12000 rpm por 5min. Una vez centrifugado, el capilar se habrá dividido en 3 partes: Una columna inferior de eritrocitos, una capa en el medio de leucocitos y plaquetas y una columna superior de plasma (p.4).

Para su lectura Sánchez (2018) menciona:

> Que se realiza con una regla para medir hematocrito donde se sostiene el tubo frente a la escala de manera que el fondo de la columna de eritrocitos quede exactamente al mismo nivel de la línea horizontal correspondiente a 0. Se desplaza el tubo a través de la escala hasta que la línea marcada con el número 100 quede al nivel del tope de la columna de plasma. La línea que pase al nivel del tope de la columna de eritrocitos indicará el porcentaje del Hematocrito (p.5).

5.3.3.2. **Plasma*:***

El plasma se obtiene tomando la sangre con anticoagulante, seguido de una centrifugación, si se toma la muestra sin anticoagulante, el líquido que se obtiene tras la centrifugación se denomina suero. Se observa el plasma, debe ser de claro a ligeramente amarillo debido a los pigmentos de la dieta, en los reptiles herbívoros, se puede observar un plasma de amarillo-anaranjado (Martínez-Silvestre et al 2011).

5.3.3.3. **Proteínas totales*:***

(Sánchez 2018) señala:

Que se calibra el refractómetro Línea azul en cero para la escala total de proteínas. Después de la lectura del hematocrito se toma el capilar y se quiebra en el buffy coat, el cual es una línea blanca entre los eritrocitos y el plasma, compuesta por leucocitos y plaquetas. Se coloca algunas gotas de plasma en la cámara del refractómetro y se lee la escala mirando a través del refractómetro dirigido hacia una fuente de luz y se registra el valor de la proteína total en gramos / 100 m. Al final se limpia el refractómetro con agua destilada (p.9).

5.3.3.4. **Hemoglobina:**

La hemoglobina se determinó utilizando el método de estimación el cual consiste en dividir el hematocrito entre un factor usualmente entre 3.0 (McKenzie, 2000, p. 116).

5.3.3.5. **Conteo eritrocitario y leucocitario:**

Se utilizó el kit individual de solución de Natt-Herricks para el conteo eritrocitario como el leucocitario, utilizando la cámara de Neubauer. El Kit consiste en 6 pasos, los cuales según Bioanalytic GmbH (2019) son:

1.Llenar el capilar de 5 µL de volumen de sangre de extremo a extremo sin dejar burbujas y se limpia el exterior con papel toalla sin aspirar la sangre dentro del capilar.

2.Coloque el capilar de sangre en el vial abierto.

3.Cierre el vial y agítelo hasta que salga toda la sangre del capilar.

4.Dejar el capilar en el vial reposando 5 minutos a temperatura ambiente y agite el vial antes de utilizar la cámara de Neubauer.

5.Abrir el vial y con un capilar extraer el contenido.

6.Colorar de una a dos gotas en la cámara de Neubauer y se deja sedimentar durante 5 minutos antes de realizar el recuento (p. 2)

Según Sánchez (2018):

> Llevar al microscopio para hacer ambos conteos con el objetivo 40X. Para el conteo eritrocitario se lee 5 cuadrantes, los cuales están ubicados en el centro del retículo, también llamado Retículo Central, estos a su vez están divididos en 16 cuadrantes. Se comienza el conteo por el extremo superior izquierdo y siguiendo una trayectoria en zig-zag hasta haber contado todas las células contenidas en las 16 cuadriculas, repitiendo la misma operación en los otros 4 cuadrantes a contar del Retículo Central (p.7).

Para el conteo leucocitario Sánchez (2018) menciona:

> Que la lectura se empieza leyendo los 8 cuadrantes de la cámara de Neubauer los cuales están divididos en 16 cuadrantes, incluido el retículo central que está dividido en 25 cuadrantes y estos a la vez en 16 cuadrantes. Se comienza el conteo por el extremo superior izquierdo y siguiendo una trayectoria en zig-zag hasta haber contado todas las células contenidas en los 9 cuadrantes. Hay células que caen sobre los bordes limitantes, por esto razón se recomienda contar sistemáticamente las células que caigan sobre 2 de los bordes (superior y derecho), despreciando las que caigan sobre los otros 2 bordes (inferior e izquierdo) (p.6).

El número total de eritrocitos por microlitro se calculó a través de las siguientes fórmulas:

- Recuento total GR × Dilución / Volumen de recuento = Células /µL
- Recuento total GR × 200 / 0,02 = RBCs / µL de sangre.
- Recuento total GR x 10000 = RBCs / µL sangre

(Bioanalytic GmbH, 2019, p. 2

El número total de leucocitos por microlitro se calculó a través de las siguientes fórmulas:

- Recuento total GB × Dilución / Volumen de recuento = Células / µL
- Recuento total GB × 200 / 0.9 = WBCs / µL sangre.
- Recuento total GB x 222 = WBCs / µL sangre

(Bioanalytic GmbH, 2019, p. 2)

5.3.3.6. Índice eritrocitario:

El volumen globular medio (VCM), Hemoglobina corpuscular media (HCM), Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) se obtuvieron una vez que se determinó la concentración de hemoglobina, el valor hematocrito y el número total de eritrocitos y se calcularon utilizando las siguientes fórmulas:

•VCM (fl) = Hematocrito (%) x10 / # de eritrocitos;

•HCM (pg) = Hemoglobina x 10 / # de eritrocitos;

•CHCM (mg/dl) = Hemoglobina (g /100ml) x 100 / hematocrito (Jacobson y Garner, 2021, p.273)

5.3.3.7. Trombocitos:

Para el recuento total de trombocitos se realizó una estimación sobre el frotis sanguíneo, durante el recuento diferencial de leucocitos, con el objetivo 100X contando los trombocitos en 10 campos y el valor medio se divide por 10 y se multiplica por 21000 para obtener una estimación. El conteo se realiza en el frotis sanguíneo debido a la dificultad de distinguir estas células de los linfocitos pequeños en la cámara de Neubauer, Martínez-Silvestre, Lavín et al (2011).

5.3.3.8. Diferencial de leucocitos:

Según Sánchez (2018):

> Se llena el capilar de sangre por simple capilaridad, llenando aproximadamente ¾ partes del capilar y sellándolo con la cera selladora. Luego se coloca en la microcentrífuga; con el extremo ocluido al borde externo de la plataforma y se centrifuga el capilar a 12000 rpm por 5min. Una vez centrifugado, el capilar se habrá dividido en 3 partes: Una columna inferior de eritrocitos, una capa en el medio de leucocitos y plaquetas y una columna superior de plasma. Con una regla para medir hematocrito indicará el porcentaje del Hematocrito (p.4 y 5)

Para la tinción de los frotis se utilizó el protocolo de Wright, se cubrió las láminas con 20 gotas del colorante, se dejaron teñir por 3 minutos, luego se dejó caer 20 gotas de agua destilada en la lámina y se homogeneizo durante 3 minutos, dejándolo escurrir y se enjuago en agua corriente, se depuso a secarse en posición vertical (RenyLab, 2012), luego se procede a utilizar la siguiente formula se cuentan 100 células por el número de cada tipo de leucocitos, y se divide por el número de leucocitos contados Cortez (2015).

Sánchez (2018) menciona que:

> La lectura se realiza en el microscopio con objetivo 10X para ver la distribución de las células y seleccionar la porción del frotis que este sobre la zona de lectura. Se coloca una gota de aceite de inmersión sobre la porción seleccionada. Se observa con el objetivo de 100X para realizar el contaje. Con la ayuda del contador diferencial de 5 botones, contar e identificar 100 células y se calcula el porcentaje de cada uno de los tipos leucocitarios aplicando la siguiente formula: % = 100 x (n° de cada tipo leucocitario) / n° de leucocitos contados (p.8 y 9)

5.3.3.9. Evaluación morfológica celular:

Se evalúo sobre extensiones de sangre heparinizada, secadas al aire y teñidas con tinción de Wright según (Martínez-Silvestre et al 2011), (Campbell, 2014, p.2). Una vez realizado el extendido y teñido, se procedió a la observación al microscopio con aceite de inmersión utilizando el objetivo de 100X, para reconocer morfológicamente las diferentes células sanguíneas.

5.4. Variables a Evaluar

Cuadro 4.

Variables

OBJETIVO	CONCEPTO	VARIABLE	INDICADOR	INSTRUMENTO
Calcular los valores hematológicos	A los conteos totales de diferentes tipos de células sanguíneas que sirven para determinar si los valores están por debajo o por encima del rango y poder establecer diagnósticos de enfermedades	Hallazgos de valores hematológicos	Hematocrito 13 – 34 % Hemoglobina 4,30 – 11.33 g/dL Eritrocitos 1.36 – 3.57 x10^6 /µL VCM 92.85 – 97.14 fL HCM 30.71 – 32.37 pg CHCM 33 – 33.33 g/dL Leucocitos 9.46 – 12.76 x10^3/µL Heterófilos 42 – 56 % Linfocitos 32– 48 % Eosinófilos 0 – 4 % Basófilos 0 – 8 % Monocitos 0 – 2 % Trombocitos 15400 – 38675 µL Proteínas totales 2.1 - 20.4g/dL	SPSS Tstudent
Describir morfológicamente las células sanguíneas	Comprende las variables de uso frecuente que se deben considerar a la hora de describir una célula forma, citoplasma, forma del núcleo, posición del núcleo.	Morfología de las sanguíneas	Características morfológicas de las células sanguíneas. Forma. Núcleo. Citoplasma. Tinción.	Galería de componentes sanguíneos (Atlas y trabajos académicos)

Nota: El cuadro muestra las variables a evaluar con unidad de medida convencional.
Fuente: Cortez (2015); Corrales y Valenciano (2019), Medline Plus (s.f), Alvarez (2018)

5.4.1. Recolección de Datos

Los datos recolectados mediante entrevista al responsable zoocriadero, se tomó en cuenta los resultados de los exámenes que se llena con datos del paciente, como la información de la especie, edad, sexo. Se elaboró una tabla de contingencia de Excel para organizar y valorar los datos obtenidos.

5.4.2. Análisis de Datos

El análisis datos fue por estadística descriptiva. Los datos se expresaron como media, desviación estándar y valor mínimo y máximo para cada variable hematológica. Se utilizó la prueba de T Student para muestras y determinar si existe diferencia estadística significativa entre la serie eritrocítica y leucocítica por efecto del sexo.

$$t = x1 - x2/\sqrt{(S^2c/n1 + S^2c/n2)}.$$

Estadístico t calculado

x1 - x2*: Diferencia de los promedios Muéstrales*

S^2c: *Varianza común*

n1: *Elementos de la muestra N°1*

n2: *Elementos de la muestra N°2*

5.5. Materiales y equipos

5.5.1 Biológicos

- 25 Tortugas hembra.
- 25 Tortugas Macho.
- 50 muestras de sangre en total.

5.5.2. Físicos (insumos o consumibles)

- Mascarilla.
- Guantes.
- Algodón.
- Papel toalla.
- Jeringas de 3ml.
- Aguja 23G.
- Tubos de 0.5 ml con heparina.
- Tiza para marcar las tortugas.
- Termo.

5.5.3. Químicos y Reactivos

- Alcohol de 70°.
- Agua destilada.
- Aceite de inmersión.
- Tinción de Wright.
- Kit individual de Solución Natt-Herricks-TIC® 1:200 (plus).

5.5.4. Material de laboratorio y equipos

- Cámara de Neubauer (improved - mejorada).
- Capilares Azules (sin Heparina).
- Microcentrífuga (micro hematocrit centrifuge).
- Lector para microhematocrito.
- Refractómetro (ATC-300).
- Microscopio (amscope).
- Cubreobjetos 22x22ml y porta objetos.
- Pipetas pasteur de 3ml.
- Cera selladora.
- Contador diferencial de células.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En Nicaragua, así como México y países centro americanos de donde se extiende la especie *Rhinoclemmys pulcherrima, s*e han reportado muy pocos estudios sobre los valores hematológicos de esta especie y sobre todo de la subespecie *manni.*

6.1. La determinación de los valores hematológico de las tortugas de la especie *Rhinoclemmys pulcherrima manni.*

En la tabla 4 se establecen los rangos referenciales de la hematología completa de las tortugas de la especie *Rhinoclemmys pulcherrima manni* obtenidos a partir de los valores de limite inferior (LI) y Superior (LS) de cada parámetro medido.

Tabla 1

***Valores hematológicos obtenidos de la tortuga de la especie Rhinoclemmys pulcherrima manni* (n=50) con unidad de medida convencional.**

Hematología	Unidad de medida Convencional	$\bar{X}$	DE	Rango (LI - LS)
Eritrocitos	x 10^6/µL	0.65	0.94	0.13 – 2.1
Hemoglobina	g/dL	6.6	1.98	2.66 – 13.66
Hematocrito	%	19.3	5.95	8 – 41
VCM	fL	534	157	111 – 800
CHCM	g/dL	33.3	1.99	33.3 - 33.3
HCM	Pg	178	149	15.6 - 641
Trombocitos	µL	18560	3864	31500 - 52500
Proteína plasmática T	g/dL	6.106	2.162	2.7- 11
Leucocitos	x10^3/µL	13.7	5.48	8.4 – 26.2
Heterófilos	%	35.42	4.99	26 – 46
Linfocitos	%	27.3	3.55	20 -36
Monocitos	%	11.72	4.54	3-19
Basófilos	%	8.6	2.05	4 – 11
Eosinófilos	%	16.96	5.33	4 – 26

Nota: La tabla muestra los valores hematológicos obtenidos de la tortuga *Rhinoclemmys pulcherrima manni,* en los cuales se evaluaron 50 ejemplares con unidad de medida convencional. Fuente: *Bello y Vásquez (2024)*

En los eritrocitos el valor obtenido se encontró entre los rangos LI y LS fue de 0.13 – 2.1 x 10^6/µL, teniendo proximidad con los resultados encontrados por Cortez, M. (2015) que fueron 1.36 – 3.57 x 10^6/µL en tortugas *Rhinoclemmys pulcherrima* (Tortuga de bosque), pero tiene un grado de similitud con el rango mínimo encontrados por Hernández (2015) en *Trachemys callirostris* que fueron de 0.12 – 0.92 x 10^6/µL.

Así mismo el valor de concentración de hemoglobina que se obtuvo fue de 2.66 – 13.6 g/dl, sin embargo, los valores que se determinaron en el estudio del zoológico de el Salvador, por Cortez, M. (2015) fueron de 4.30 – 11.33 g/dl los de Corrales, A. y Valenciano, V. (2019) 2.7 – 7.4 g/dl. Y en tortuga terrestre (*Geochelone denticulata*) los resultados de hemoglobina obtenidos por *(Cabrera P. et al., 2011) fueron 3.1* – 12.2 g/dl. Por lo que no difieren con respecto a los encontrados en este estudio.

El valor obtenido de hematocrito en este estudio se encontró entre los rangos LI y LS 8 – 41 % mientras que los valores encontrados por Cortez, M. (2015) y a los de Corrales, A. y Valenciano, V. (2019) fueron de 13 - 34% y 10 - 29% respectivamente. Lo que sugiere que nuestro LS es normal debido a que el hematocrito en tortugas de agua dulce es más elevado en las adultas que en las jóvenes por otro lado los valores a más de 55% es un índice de hemoconcentración o policitemia (Martínez-Silvestre. 2011). Y los valores encontrados por Hernández (2015) fueron de 4.5 – 24.4 % esto en la especie *Trachemys scripta scripta,* lo que indica que ambos rangos obtenidos en estudio son normales.

El índice eritrocitario determinados en las tortugas *Rhinoclemmys pulcherrima manni* fueron los siguientes para el VCM 111 – 800 fL; CHCM 33 - 33.3 g/dl y HCM 15.6 – 64 pg, estos parámetros tienen un rango de similitud con Romero A y López A (2023) en tortugas terrestres *Chelonoidis carbonaria* donde el VCM 343,51 - 1393,94 CMHC 25,96 - 38,10 no así con los de HCM que fueron superiores a los de este estudio (117,05 - 460,00), pero con los de Hernandez (2015) el VCM 64 – 464, CHCM 3.5 – 43.0 y los HCM con 16 – 183.

El valor obtenido en los trombocitos fue de 31,500 – 52,500 µl, tiene un grado similitud con los resultados encontrados por Pedrozo (2016) con resultados de 12,000 – 159,800 /µL en Tortugas (*Chelonoidis chilensis)* y Cortez, M. (2015) que fueron 15.400 – 38,675 / µl en tortugas *Rhinoclemmys pulcherrima* (Tortuga de bosque)

Los valores que se obtuvieron de la de proteína plasmática en este estudio se halló entre los rangos LI y LS con un 2.7 – 11 g/dl, teniendo un grado de similitud con los resultados que obtuvieron Corrales, A. y Valenciano, V. (2019) con (2.1-20.4 g/dl) en tortuga roja (*Rhinoclemmys pulcherrima).*

En los leucocitos los valores fueron de 8.4 – 26.2 $x10^3$/µl, se asemeja a los datos encontrados por Cortez, M. (2015) de los rangos leucocitarios en *Rhinoclemmys pulcherrima* (Tortuga de bosque) que fueron de 9.46 – 12.76 /µL.

El valor de Heterófilos en este estudio fue del 26% – 46 %, teniendo similitud con los resultados de Hernández J. (2015) siendo estos del 49.3% ± 8.7%, en tortugas *Trachemys s. s*, (tortuga de aguas mansas) y con Cortez, M. (2015) del 42 – 56 % en *Rhinoclemmys pulcherrima* (Tortuga de bosque).

El porcentaje de linfocito de este estudio fue del 20% -36%, aproximándose a los resultados de Cortez, M. (2015) con el 32%– 48% en *Rhinoclemmys pulcherrima* (Tortuga de bosque), y a los Hernández J. (2015) con 2-38% en *Clemmys muhlenbergii* (tortuga de pantano).

El valor de los Monocito encontrado fue de 3%-19%, teniendo un grado de similitud a los resultados encontrado por Corrales, A. y Valenciano, V. (2019) que fue del 1 – 25% en tortuga roja (*Rhinoclemmys pulcherrima), y* a los Hernández J. (2015) con el 0%-34% tortuga *Clemmys muhlenbergii*, pero difieren de los resultados encontrados por Cortez, M. (2015) con resultados 0 – 2% en *Rhinoclemmys pulcherrima* (Tortuga de bosque).

Los valores de los basófilos 4% – 11% de este estudio contienen un grado de similitud con los datos obtenidos por Corrales, A. y Valenciano, V. (2019) que fueron de 0% – 11% en tortuga roja (*Rhinoclemmys pulcherrima)*, y se aproximaron con los de Cortez, M. (2015) 0 – 8% *Rhinoclemmys pulcherrima* (Tortuga de bosque) y Pedrozo (2016) 0 – 14% Tortugas *Chelonoidis chilensis* (T. Terrestre).

En eosinófilo los valores obtenidos fueron de 4 – 26%, tienen similitud en los resultados de Hernández J. (2015) 0-22% en tortuga *Clemmys muhlenbergii*, Corrales, A. y Valenciano, V. (2019) 0 – 32% tortuga roja (*Rhinoclemmys pulcherrima), pero difiere de los resultados de* Cortez, M. (2015) 0 – 4% *Rhinoclemmys pulcherrima*.

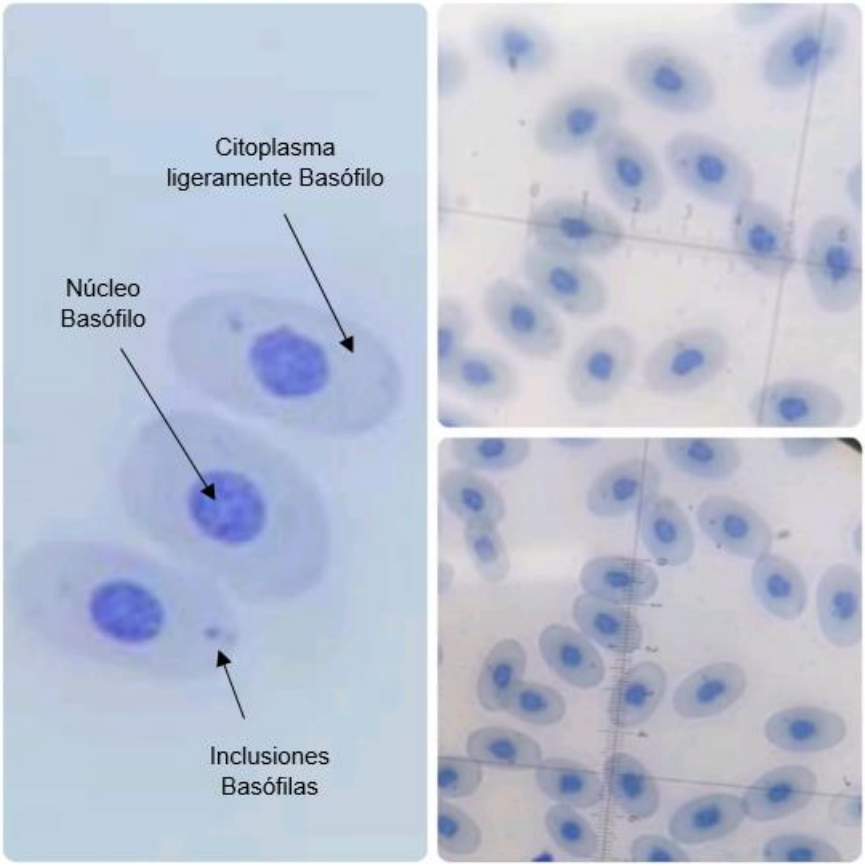
6.2. Morfología de las células sanguíneas de las tortugas de la especie *R. pulcherrima manni*

La valoración morfológica se realizó mediante la tinción de Wright por microscopia óptica la que nos permitió identificar a cinco tipos de leucocitos entre ellos, células heterófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos, además eritrocito y trombocitos no se identificó ni neutrófilos ni azurófilos, cada una con características morfológicas especificas en tamaño, forma y color.

Esta identificación de las células coincide con Hernández J. (2015) quien también cito en su tesis doctoral a Innis et al., (2007); Chung et al., (2009); Arizza et al., (2014); Carrascal-Velásquez et al., (2014). quienes sugieren que las morfologías celulares de los quelonios presentan los mismos tipos de células y carecen de neutrófilos y azúrofilos.

6.2.1. Eritrocito

Imagen 2.
Morfología del eritrocito

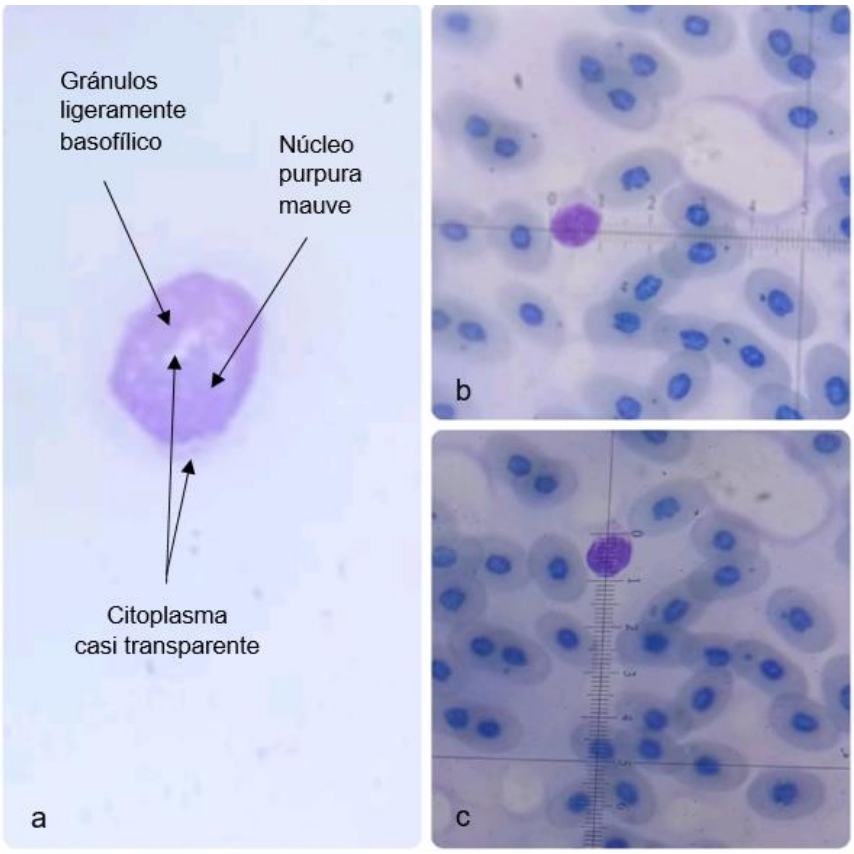


Nota: Eritrocito (100X). (a) Descripción morfológica del eritrocito. (b) Medición del largo del eritrocito. (c) Medición del ancho del eritrocito. Fuente *Bello y Vásquez (2024).*

Son células sanguíneas más abundantes. Su morfología es ovalada con un tamaño: 10.00 µm de ancho a 18.60 µm de largo. Su núcleo es central y ovalado con un tamaño promedio de 4.70 µm de ancho a 5.80 de largo, de color basófilo debido a la cromatina. Y su citoplasma es de color ligeramente basófilo con presencia de inclusiones basófilas (Howell-jolly). Imagen 2. Estas características morfológicas coinciden con Hernández (2015) y otros autores investigadores en tortugas terrestres, tortugas de aguas mansas y tortugas marinas autores citados por este mismo (Chung *et al.*, 2009; Chansue *et al*., 2011; Salakij *et a*l., 2014).

6.2.2. Heterófilo

Imagen 3.
Morfología del heterófilo.



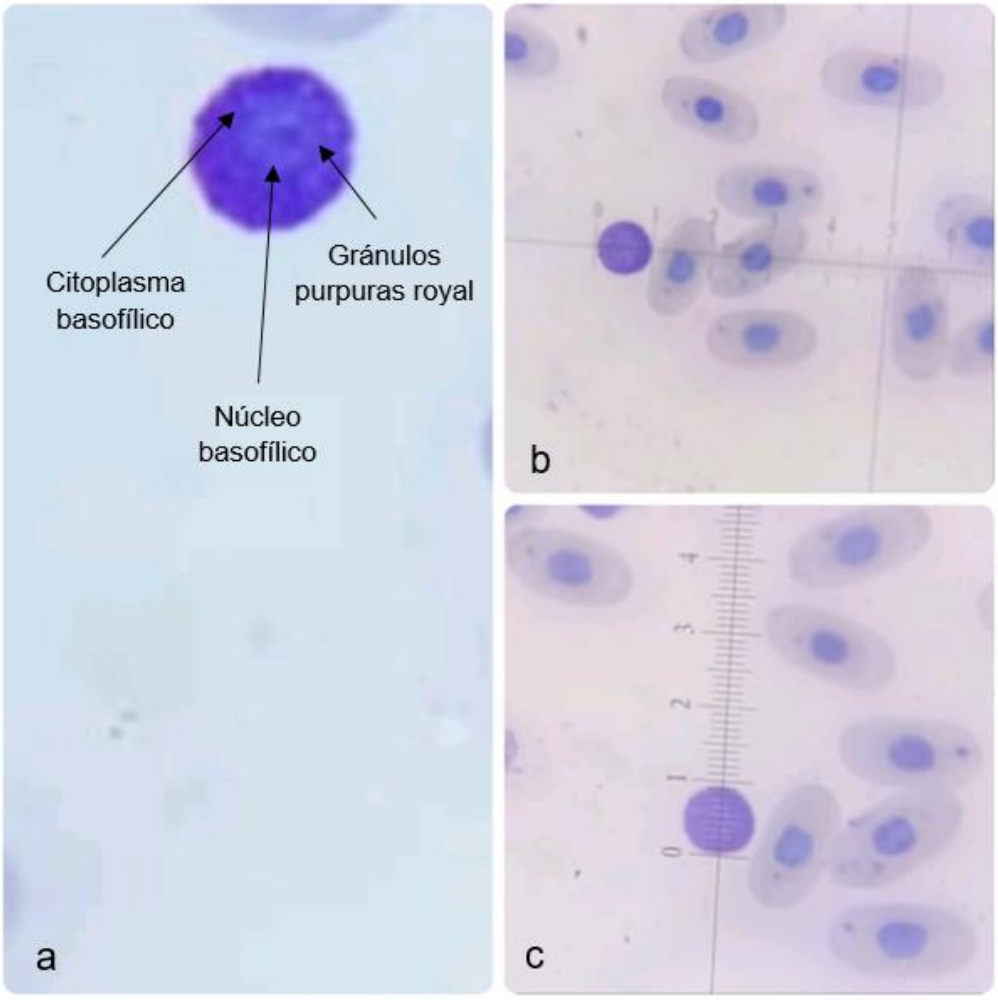
Nota: Heterófilo (100X). (a) Descripción morfológica del heterófilo. (b) Medición del largo del heterófilo. (c) Medición del ancho del heterófilo. Fuente *Bello y Vásquez (2024).*

Su morfología es redondeada con un tamaño 10.30 µm de ancho y 11.40 µm de largo. Su núcleo es ligeramente excéntrico de color purpura mauve, tipo 2 ósea no lobulado. Tiene un citoplasma casi transparente, contiene gránulos variables (abundantes refringentes y fusiformes) o desgranulado. Imagen. 3.

Esta morfología coincide con Hernández (2015) y Corrales, A. y Valenciano, V. (2019) en tortuga roja (*Rhinoclemmys pulcherrima*), pero parcialmente su tamaño promedio 11.36 de largo - 12.41µm) y (16.219 x 14.555) µm respectivamente.

6.2.3. Basófilo

Imagen 4.
Morfología del basófilo

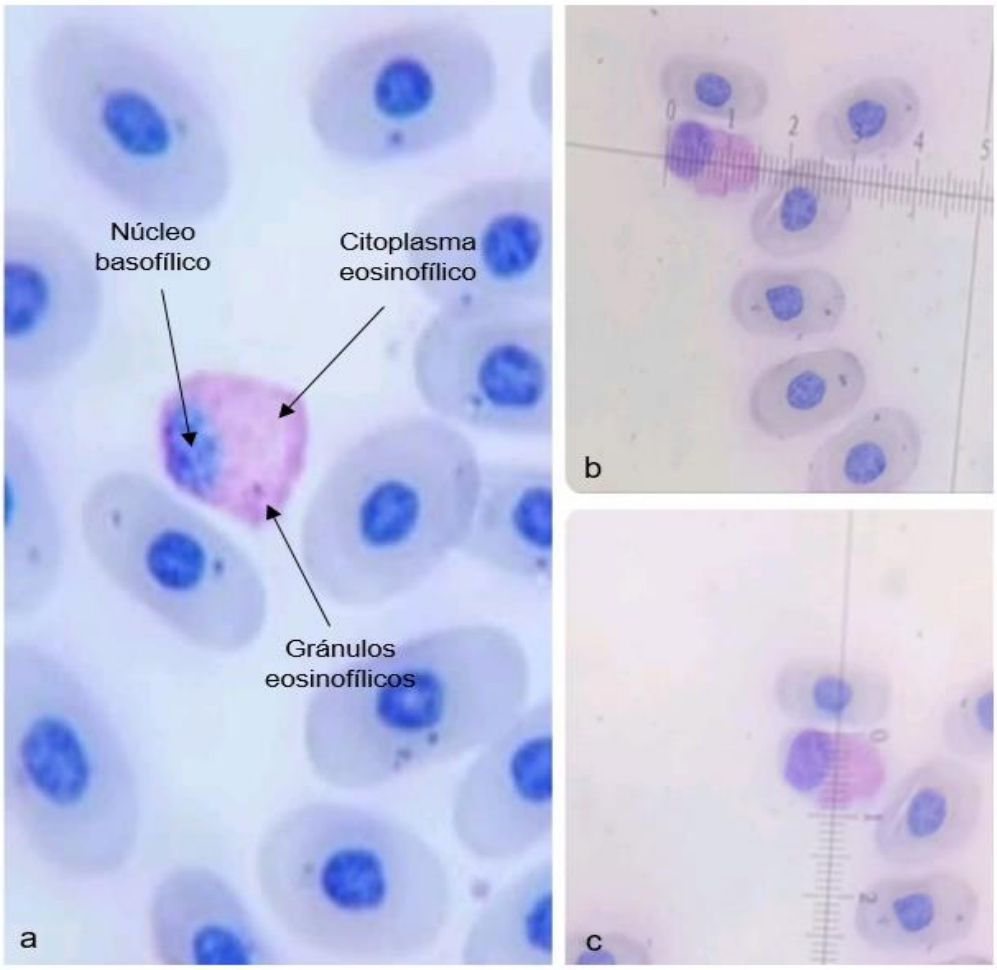


Nota: Basófilo (100X). (a) Descripción morfológica del basófilo. (b) Medición del largo del basófilo. (c) Medición del ancho del basófilo. Fuente *Bello y Vásquez (2024).*

Célula leucocitaria que posee una morfología grande y redonda con un tamaño de 10.40 µm ancho y 10.90 µm de largo. Su núcleo es color basofílico ya contiene cromatina densa y no se puede medir ya que su citoplasma es de color basofílico con gránulos purpuras royal que casi cubren al núcleo concordando con Hernández (2015) y (Ramírez, Martínez et al (2012). Imagen 4.

6.2.4. Eosinófilo

Imagen 5.
Morfología del Eosinófilo

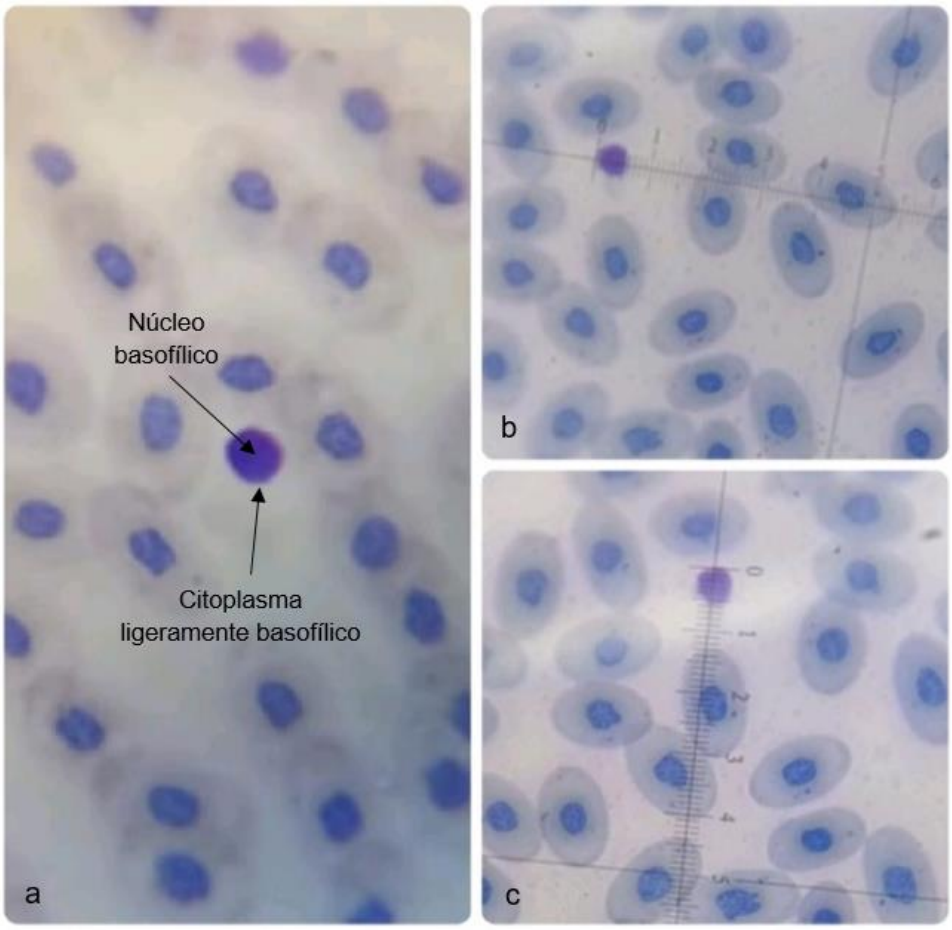


Nota: Eosinófilo (100X). (a) Descripción morfológica del eosinófilo. (b) Medición del largo del eosinófilo. (c) Medición del ancho del eosinófilo. Fuente *Bello y Vásquez (2024).*

Posee una morfología de redonda a ovalada, con un tamaño de 10.40 µm de ancho y 12.60 µm de largo. Su núcleo tiene forma variable, desde redondo a ligeramente elongado, posición central o excéntrico con bordes irregulares y su tamaño es 6.50 µm de ancho y 6.70 µm de largo. El citoplasma tiene un color Eosinofílico, abundante y contienen pequeños gránulos intracitoplasmáticos eosinofílicos de forma esférica *según* Martínez-silvestre, Lavín et al (2011). Imagen 5.

6.2.5. Linfocito

Imagen 6.
Morfología del Linfocito

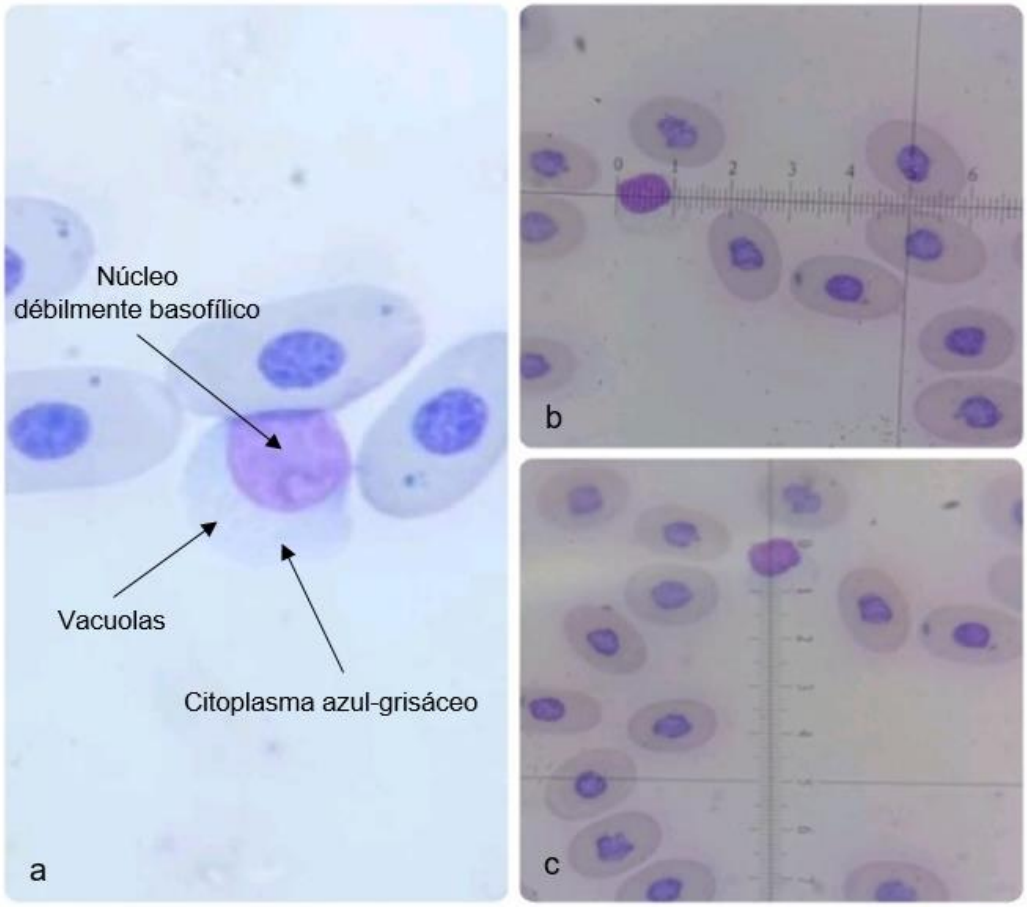


Nota: Linfocito (100X). (a) Descripción morfológica del linfocito. (b) Medición del largo del linfocito. (c) Medición del ancho del linfocito. Fuente *Bello y Vásquez (2024).*

La morfología de los linfocitos son células pequeñas y redondas con un tamaño de 5.30 µm de ancho y 5.60 µm de largo. Su núcleo color basofílico, circular y situado centralmente con un tamaño de 4.90 µm de ancho y 5.10 µm de largo. Tiene un citoplasma débilmente basofílico, escaso a moderado y homogéneo, no presenta vacuolas ni gránulos, pero si presenta pseudopodia en la periferia celular según Martínez-Silvestre *et al.* (2011). Imagen 6.

6.2.6. Monocito

Imagen 7.
Morfología del Monocito.

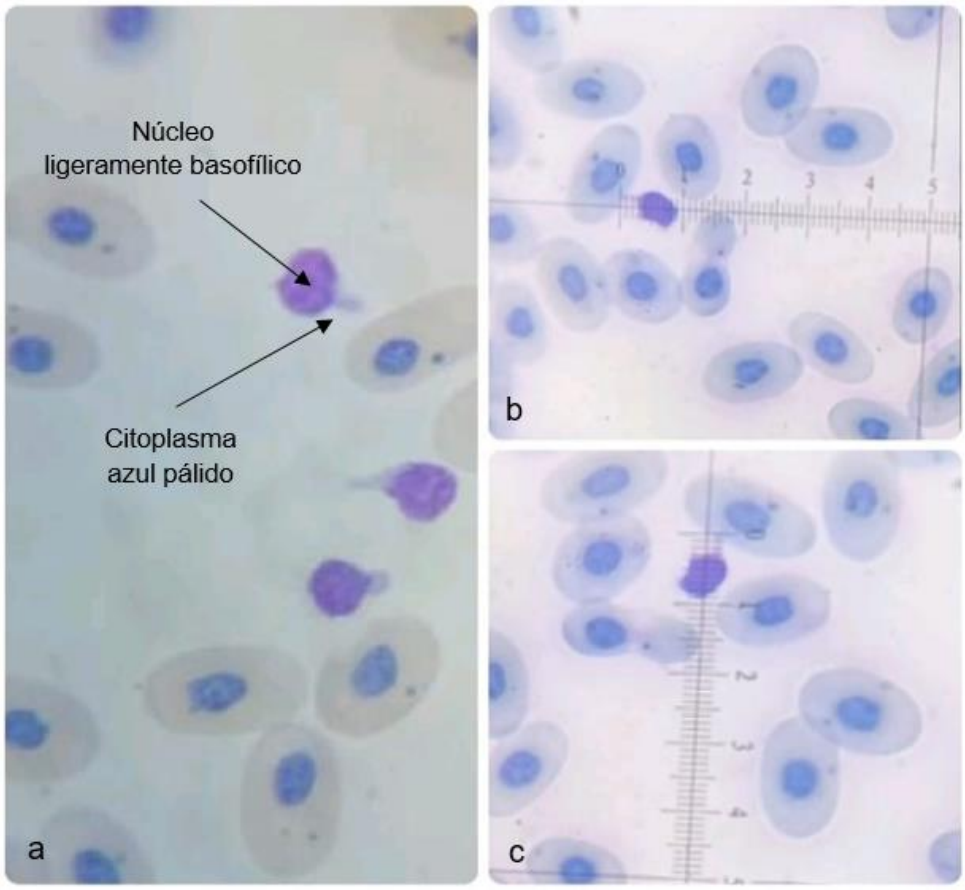


Nota: Monocito (100X). (a) Descripción morfológica del monocito. (b) Medición del largo del monocito. (c) Medición del ancho del monocito. Fuente *Bello y Vásquez (2024).*

Tiene una morfología de redondo a ameboide con un tamaño de 10.40 µm de ancho y 11.30 µm de largo. Su núcleo tiene un color débilmente basofílico, pleomórfico (oval, arriñonado, fusiforme) con un tamaño de 6.90 µm de largo y 7.60 µm de ancho. Posee un citoplasma de color azul-grisáceo con presencia de vacuolas dicho por Martínez-silvestre, Lavín et al (2011). Imagen 7.

6.2.7. Trombocitos

Imagen 8.
Morfología del Trombocito



Nota: Trombocito (100X). (a) Descripción morfológica del trombocito. (b) Medición del largo del trombocito. (c) Medición del ancho del trombocito. Fuente *Bello y Vásquez (2024).*

Tiene un morfología elíptica o fusiforme con bordes redondeados con un tamaño: 3.70 µm de ancho y 3.90 de largo. Su núcleo posee una coloración ligeramente basofílico, es central y grande con un tamaño de 3.00 µm de ancho y 3.20 µm de largo, con o sin proyecciones puntiagudas. Su citoplasma es de color azul muy pálido, escaso adherido al núcleo con proyecciones puntiagudas como un velo o tipo parasito según Martínez-silvestre, Lavín et al (2011). Imagen 8.

Tabla 2

Medidas obtenidas de las células sanguíneas de las tortugas R. pulcherrima manni

	Células							Núcleo					
		Largo (µm)			Ancho (µm)			Largo (µm)			Ancho (µm)		
	n	$\bar{X}$	DE	Rango (Mín - Máx)	$\bar{X}$	DE	Rango (Mín - Máx)	$\bar{X}$	DE	Rango (Mín - Máx)	$\bar{X}$	DE	Rango (Mín - Máx)
Eritrocitos	20	18.60	1.30	15.00 – 22.00	10.00	1.80	6.00 – 14.00	5.80	0.40	5.00 – 11.00	4.70	0.70	3.00 – 6.00
Trombocitos	20	3.90	0.50	3.00 – 5.00	3.70	0.40	3.00 – 4.00	3.20	4.00	3.00 - 4.00	3.00	56.90	3.00 – 3.00
Heterófilos	20	11.40	2.10	9.00 – 17.00	10.30	1.30	9.00 – 15.00						
Linfocitos	20	5.60	0.70	4.00 – 7.00	5.30	0.70	4.00 – 7.00	5.10	0.50	4.00 – 6.00	4.90	0.30	4.00 – 6.00
Monocitos	20	11.30	1.30	10.00 – 15.00	10.40	1.00	9.00 – 13.00	6.90	1.10	5.00 – 9.00	7.60	2.20	6.00 – 17.00
Basófilos	20	10.90	0.60	9.00 – 15.00	10.40	2.10	9.00 – 19.00						
Eosinófilos	20	12.60	2.50	8.00 – 17.00	10.40	1.90	7.00 – 15.00	6.70	0.90	5.00 – 9.00	6.50	1.00	5.00 – 9.00

Nota: Medidas células expresadas en µm. Fuente: *Bello y Vásquez (2024)*

Tabla 3

Se exponen los datos del estudio estadístico por medio de la prueba Tstudent a los valores de los parámetros hematológicos de las tortugas Rhinoclemmys pulcherrima manni, de acuerdo al sexo.

	Hembras			Machos		
Células	**Media**	**Varianza**	**Observaciones**	**Media**	**Varianza**	**Observaciones**
Eritrocitos	0.472	0.06986667	25	0.822	0.48149167	25
Leucocitos	12.628	20.2110333	25	14.9248	38.5533427	25
Heterófilos	37.4	26.3333333	25	33.44	16.4233333	25

Nota: *Valores de los parámetros hematológicos los cuales mostraron variaciones en los resultados comparativos de acuerdo al sexo.* Fuente: *Bello y Vásquez (2024)*

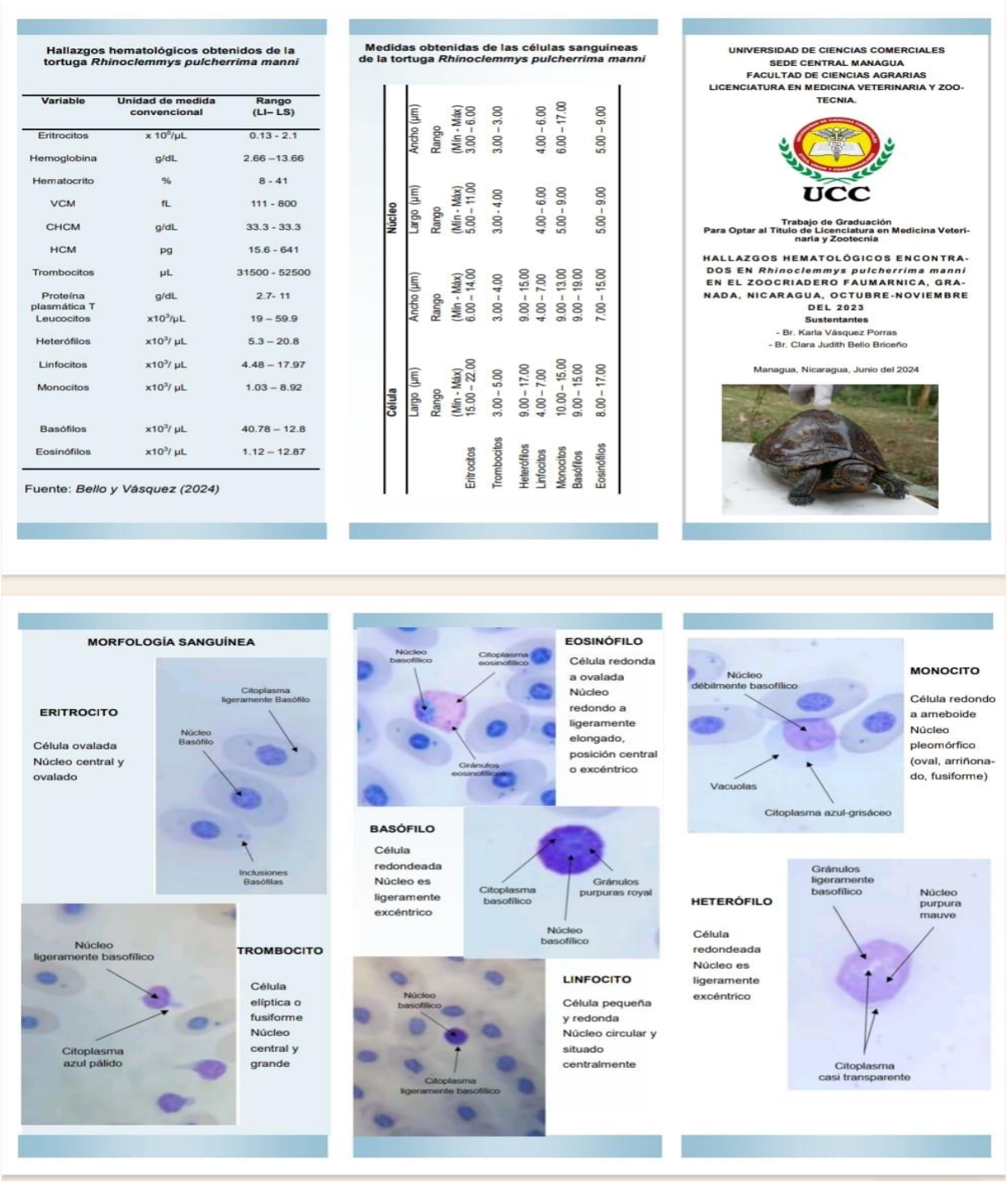
En este cuadro se puede observar que los valores de los eritrocitos de las hembras mostraron pequeñas disminuciones con respecto a los valores de células del macho. Según Cortez, M. (2015) la disminución es fisiológicamente normal en las hembras.

En el caso de los leucocitos se logra observar diferencia entre las hembras y machos, siendo más altas en los machos que según Vilalta, (2021) en tortugas *Hieremys annandalii* (tortuga de bosques húmedos) puede ser fisiológico en donde se observó esta variación.

Pero lo contrario se pudo observar que los Heterófilos mostraron ser más altos en las hembras que en los machos esto podría asociarse a que las hembras se encontraban ya en la edad reproductiva por lo que algunos autores también han citado un incremento de estas células en hembras grávidas en algunas especies de reptiles (Duguy, 1970; Cuadrado *et al*., 2002) citado por Hernández J. (2015).

Imagen 9

Propuesta de los valores hematológicos obtenidos de la tortuga Rhinoclemmys pulcherrima manni y sus descripciones morfológicas.



Hallazgos hematológicos obtenidos de la tortuga *Rhinoclemmys pulcherrima manni*

Variable	Unidad de medida convencional	Rango (LI– LS)
Eritrocitos	x 10^6/µL	0.13 - 2.1
Hemoglobina	g/dL	2.66 –13.66
Hematocrito	%	8 - 41
VCM	fL	111 - 800
CHCM	g/dL	33.3 - 33.3
HCM	pg	15.6 - 641
Trombocitos	µL	31500 - 52500
Proteína plasmática T	g/dL	2.7- 11
Leucocitos	x10^3/µL	19 – 59.9
Heterófilos	x10^3/ µL	5.3 – 20.8
Linfocitos	x10^3/ µL	4.48 – 17.97
Monocitos	x10^3/ µL	1.03 – 8.92
Basófilos	x10^3/ µL	40.78 – 12.8
Eosinófilos	x10^3/ µL	1.12 – 12.87

Fuente: *Bello y Vásquez (2024)*

Medidas obtenidas de las células sanguíneas de la tortuga *Rhinoclemmys pulcherrima manni*

Célula		Núcleo			
	Largo (µm) Rango (Min - Máx)	Ancho (µm) Rango (Min - Máx)	Largo (µm) Rango (Min - Máx)	Ancho (µm) Rango (Min - Máx)
Eritrocitos	15.00 – 22.00	6.00 – 14.00	5.00 – 11.00	3.00 – 6.00
Trombocitos	3.00 – 5.00	3.00 – 4.00	3.00 - 4.00	3.00 – 3.00
Heterófilos	9.00 – 17.00	9.00 – 15.00		
Linfocitos	4.00 – 7.00	4.00 – 7.00	4.00 – 6.00	4.00 – 6.00
Monocitos	10.00 – 15.00	9.00 – 13.00	5.00 – 9.00	6.00 – 17.00
Basófilos	9.00 – 15.00	9.00 – 19.00		
Eosinófilos	8.00 – 17.00	7.00 – 15.00	5.00 – 9.00	5.00 – 9.00

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS COMERCIALES
SEDE CENTRAL MANAGUA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.

UCC

Trabajo de Graduación
Para Optar al Título de Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS ENCONTRADOS EN *Rhinoclemmys pulcherrima manni* EN EL ZOOCRIADERO FAUMARNICA, GRANADA, NICARAGUA, OCTUBRE-NOVIEMBRE DEL 2023

Sustentantes
- Br. Karla Vásquez Porras
- Br. Clara Judith Bello Briceño

Managua, Nicaragua, Junio del 2024

MORFOLOGÍA SANGUÍNEA

ERITROCITO
Célula ovalada
Núcleo central y ovalado
Citoplasma ligeramente Basófilo
Núcleo Basófilo
Inclusiones Basófilas

TROMBOCITO
Célula elíptica o fusiforme
Núcleo central y grande
Núcleo ligeramente basofílico
Citoplasma azul pálido

EOSINÓFILO
Célula redonda a ovalada
Núcleo redondo a ligeramente elongado, posición central o excéntrico
Núcleo basofílico
Citoplasma eosinofílico
Gránulos eosinofílicos

BASÓFILO
Célula redondeada
Núcleo es ligeramente excéntrico
Citoplasma basofílico
Gránulos purpuras royal
Núcleo basofílico

LINFOCITO
Célula pequeña y redonda
Núcleo circular y situado centralmente
Núcleo basofílico
Citoplasma ligeramente basofílico

MONOCITO
Célula redondo a ameboide
Núcleo pleomórfico (oval, arriñonado, fusiforme)
Núcleo débilmente basofílico
Vacuolas
Citoplasma azul-grisáceo

HETERÓFILO
Célula redondeada
Núcleo es ligeramente excéntrico
Gránulos ligeramente basofílico
Núcleo purpura mauve
Citoplasma casi transparente

Nota: *Trifoliar con información de los valores hematológicos y morfología celular de la tortuga Rhinoclemmys pulcherrima manni.* Fuente: *Bello y Vásquez (2024)*

VII. CONCLUSIONES

Los valores de referencia expuestos en el presente trabajo sobre los componentes sanguíneos de las tortugas *Rhinoclemmys pulcherrima manni* en cautiverio constituyen el primero en el país.

Los parámetros hematológicos de las tortugas *Rhinoclemmys pulcherrima manni* contienen un grado de similitud con otros estudios en tortugas terrestres.

Se encontró una variación de acuerdo al sexo, en los resultados de los eritrocitos, leucocitos y heterófilos,

En estudio se describió morfológicamente las células sanguíneas de la tortuga *Rhinoclemmys pulcherrima manni, lo que* permitió identificar siete tipos de células entre ellas; cinco tipos de leucocitos (heterófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos), a los eritrocitos y trombocitos.

Las características morfológicas de las células sanguíneas de la tortuga *Rhinoclemmys pulcherrima manni,* en cuanto su forma tiene un grado de similitud con otros estudios realizados en tortugas terrestres, tortugas de aguas mansa, y tortugas marinas. Pero no así en su respuesta tintorial debido al tipo de tinción utilizados y en cuanto a su tamaño difieren ya que son de otras especies de quelonios.

A pesar de la dificultad para establecer intervalos de referencia para los valores sanguíneos de las tortugas *Rhinoclemmys pulcherrima manni,* a falta de datos comparativos de la especie, por factores intrínsecos y extrínsecos, se logró calcular los valores hematológicos para dicha especie.

El estudio Hematológico permitió la elaboración de una propuesta de parámetros hematológicos de referencia para la tortuga *Rhinoclemmys pulcherrima manni* que ayudara a evaluar el estado salud.

VIII. RECOMENDACIONES

Realizar estudios clínicos como bioquímica sanguínea y coprológicos, entre los quelonios de las diferentes especies que se encuentran en el Zoocriadero FAUMARNICA.

Realizar estudios hematológicos comparativos entre las tortugas jóvenes y geriátricas para ampliar la información de la tortuga *Rhinoclemmys pulcherrima manni*.

Realizar exámenes hematológicos periódicamente en los quelonios para evaluar su estado de salud, en las diferentes zonas del pacifico.

Realizar estudio hematológico en los quelonios en diferentes zonas del país, donde se valore la dieta, el habitad, y temperatura.

IX. LITERATURA CITADA

Acero, E. J. (s.f.). Valores hematológicos de amazona amazonica, amazona ochrocephala, cebus apella, cebus albifrons, saimiri sciureus, saguinus leucopus, geochelone carbonaria, boa constrictor y kinosternon leucostomum en el centro de recepción y rehabilitación de fauna silv. GOV.COM. https://ambientebogota.gov.co/herramientas3/-/asset_publisher/aMOfPL5qLRJx/content/valores-hematologicos-de-amazona-amazonica-amazona-ochrocephala-cebus-apella-cebus-albifrons-saimiri-sciureus-saguinus-leucopus-geochelone-carbonaria-

Arcila, v., navarro, r., real, w., rincón, m., y vilamizar, m. (2005). hematología y química sérica en hembras quelonios (trachemys scripta callirostris) en la ribera del río lebrija, puerto wilches (santander) parte 1. *revista dpei domus sede Bucaramanga*, vol 1, pp 35-35. https://revistas.udea.edu.co/index.php/rccp/article/view/323977?articlesBySimilarityPage=82

ATEUVES (2022). Hematología básica en animales exóticos. ATEUVES. https://ateuves.es/hematologia-basica-en-animales-exoticos/

Barragan, K. (2002). Enfermedades de reptiles y anfibios. *Boletín geas*, vol. 3, pp 18 https://issuu.com/vetsvidasilv/docs/bgeas200203

Bioanalytic gmbh. (2019). *Natt-herricks-tic® 1:200 (plus).* http://www.bioanalytic.de/en/product/article/natt-herricks-tic-1-200-plus-184.html

Brandan, Aguirre y Giménez (2008). Hemoglobina. Cátedra de Bioquímica – Facultad de Medicina UNNE. https://docs.moodle.org/all/es/images_es/5/5b/Hemoglobina.pdf

Campbell, T.W, (2014), Citología hemática: evaluación del frotís sanguíneo. *zooLógica*, vol.1, pp 24. https://www.alvefas.org/Citologia-hematica.pdf

Carrascal, J; Negrete, H; Rojano, C; Otero, G; Chacón, J. y Linares, J. (2014). caracterización hematológica de hicoteas (trachemys callirostris gray, 1856) en córdoba, Colombia. *revista de medicina veterinaria bogotá,* vol 1, pp 53 https://ciencia.lasalle.edu.co/mv/vol1/iss28/5/

Copete-sierra, M. (2013) Aspectos generales de la evaluación hematológica en fauna silvestre y no convencional. *revistas.veterinariosvs.org,* vol. 9, p 22 https://www.revistas.veterinariosvs.org/index.php/cima/article/view/126

Corrales, A. y Valenciano, V. (28 de mayo, 2019). *Determinación de parámetros hematológicos, bioquímica sanguínea y morfología de las células sanguíneas de la tortuga roja (Rhinoclemmys pulcherrima) en condiciones de cautiverio* [Tesis de Grado, Universidad Nacional Costa Rica]. https://repositorio.una.ac.cr/handle/11056/17228

Cortez, M. (2015). *Perfil hemático y presencia de hemoparásitos en reptiles del parque Zoologico Nacional, el Salvador* [Tesis de Grado, Universidad de El Salvador] https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/7630/

Gbif (2024). *Rhinoclemmys pulcherrima* (Gray, 1855). Global biodiversity information facility. https://www.gbif.org/es/species/2443680

Hernández, M. J. D. (2016). *Caracterización morfológica, citoquímica y ultraestructural de las células sanguíneas y estudio hematológico en trachemys scripta scripta.* [Tesis de Doctorado, Universidad de las Palmas de Gran Canaria] https://accedacris.ulpgc.es/handle/10553/19290

HerpetoNica (2001). *Guía ilustrada de anfibios y reptiles de Nicaragua* (1º ed.) Servicios fotomécanicos, S. A. SERFOSA.

Jacobson, E y Garner, M. (2021). *Infectious diseases and pathology of reptiles – color atlas and text* (2ª ed.). taylor y francis group.

Kolby, J. E. (2021). Guía de identificación de tortugas terrestres y de agua dulce: partes, productos y derivados en el comercio. *Secretaría de la cites, ginebra, suiza* (2021) https://cites.org/sites/default/files/EST/2309909S_final.pdf

Labtestsoline (2021). Recuento de leucocitos. https://www.labtestsonline.es/tests/recuento-de-leucocitos

Lamberski, N. (2012). *Body Condition Scores for Desert Tortoises.* American Association of Zoo Veterinarians Conference. https://www.vin.com/apputil/project/defaultadv1.aspx?pid=11367ycatid=yid=9846779ymeta=yauthorid=

Lendeers (2019). *Reptiles of Costa Rica* (1º ed.) zona tropical.

Lozada, C. D. (2015). *Valores hematológicos y de bioquímica sanguínea de la tortuga motelo (chelonoides denticulata) en el cantón puyo parroquia Tarqui* [Tesis de Grado, Universidad Técnica de Ambato, Cevallos-ecuador] https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/26067

Martínez-silvestre, A; Lavín, S; y Cuenca, R. (2011). hematología y citología sanguínea en reptiles*. AVEPA,* vol 31, pp 134. https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4146643

Mcarthur, S; Wilkinson, R; y Meyer, J. (2004). *medicine and surgery of tortoises and turtles* (1º ed.) Blackwell publishing.

Merchan, M. (octubre del 2002). *Contribución al conocimiento de la biología de la tortuga negra (Rhinoclemmys funerea) y la tortuga roja (R. pulcherrima manni) en Costa Rica* [Tesis de Doctorado, Universidad Complutense de Madrid] https://webs.ucm.es/BUCM/tesis/bio/ucm-t26404.pdf

Montilla, J. A; Prieto-torrez, D., Hernández, J. L.y Alvarado, M. C. (2014). Estudio hematológico de tortugas marinas eretmochelys imbricata y caretta caretta presentes en la Alta Guajira, Golfo de Venezuela. *revista cientifica universidad del zulia venezuela,* vol 24, pp 364. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95931404005

Muñoz, Rendón et al. (2016), Colecta y conservación de muestras de fauna silvestre en condiciones de campo. (1ra ed.) Casa abierta al tiempo

Pedrozo Pietro, R; Vetter Hiebert, R; Quintana Ruíz, D; Fernández Gebhardt, R; y Vilalba Falcón, R. (2016). Valores hematologicos y de proteína total en tortugas terrestres (chelonoidis chilensis) en cautiverio en las ciudades de asunción y san lorenzo, paraguay. *compendio de ciencias veterinarias*, vol 6, pp 29. http://scielo.iics.una.py/pdf/ccv/v6n2/v6n2a05.pdf

Prieto-Torres, D. A; Hernández-Rangel, J. L; Bravo-Henrique, A. R; Alvarado-Árraga, M. C; Dávila-Ojeda, M. J; y Quiroz-Sánchez, N. R. (2012). Valores hematológicos de la población anidadora de tortuga verde (chelonia mydas) en el refugio de fauna silvestre isla de aves, venezuela. *revista científica universidad del zulia*, vol 22, pp 273. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95922219011

Ramírez Acevado, L. M; Martínez Blas, S. S; y Fuentes-Mascorro, G. (2012). Hemograma y características morfológicas de las células sanguíneas de tortuga golfina (lephidochelis olivacea) de oaxaca México. *Revista científica universidad de zulia*, vol 22, pp 469. https://www.redalyc.org/pdf/959/95923384011.pdf

Ramos, J. (2021). Mini manual de extracción de sangre en tortugas. *Docplayer.* https://docplayer.es/214486874-Extraccion-de-sangre-en-tortugas.html

Renylab (diciembre, 2012). Wright. *RENYLAB*. https://www.renylab.ind.br/produto/wright/

Rodríguez, et al (marzo, 2022). Consideraciones para la obtención de sangre en tortugas: sitios de venopunción y anticoagulantes. *revista mvz córdoba*. p 4-11. https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/2256/4733

Sánchez (2018). *CEDIVE-PT-001-IN-002 HEMATOCRITO Y PROTEÍNAS PLASMATICAS* [Tesis de Grado, Universidad de Ciencias Comerciales, Managua-Nicaragua]

Sánchez (2018). *CEDIVE-PT-001-IN-005 RECUENTO MANUAL DE GLÓBULOS ROJOS* [Tesis de Grado, Universidad de Ciencias Comerciales, Managua-Nicaragua]

Sánchez (2018). *CEDIVE-PT-001-IN-004 RECUENTO MANUAL DE GLÓBULOS BLANCOS* [Tesis de Grado, Universidad de Ciencias Comerciales, Managua-Nicaragua]

Sanmartin, V. C. (2012). Comparación de tres métodos de medición de hemoglobina en cirugía cardiaca [Trabajo de suficiencia investigadora, Universidad autónoma de Barcelona, Barcelona-España] https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2012/hdl_2072_203376/TR-CegarraSanmartin.pdf

Sink y Feldman (2004). Laboratory Urinalysis and Hematology for the Small Animal Practitioner (1ª ed.) Teton NewMedia.

Stacy, Alleman et al. (2011). *Diagnostic hematology of reptiles. ELSEVIER.* Vol 31. pp 87. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0272271210001484?via%3Dihub

Thrall, Robin *et al* (2012). *Veterinary hematology and clinical chemistry* (2ª ed.) Wiley-blackwell.

Toriano, J. (2013). Colecta de muestras sanguíneas en reptiles. Asociación de veterinarios de vida silvestre. para restricción física de fauna silvestre. *revistas.veterinariosvs.org,* vol. 9, p 22. https://www.revistas.veterinariosvs.org/index.php/cima/article/view/129

Vilalta S. L (2021). Hematología en animales exóticos. Parte II: frotis sanguíneo en aves y reptiles. Clinvet by multimedica. https://revistas-veterinaria.multimedica.es/clinlabvet/hematologia-en-animales-exoticos-parte-ii-frotis-sanguineo-en-aves-y-reptiles/

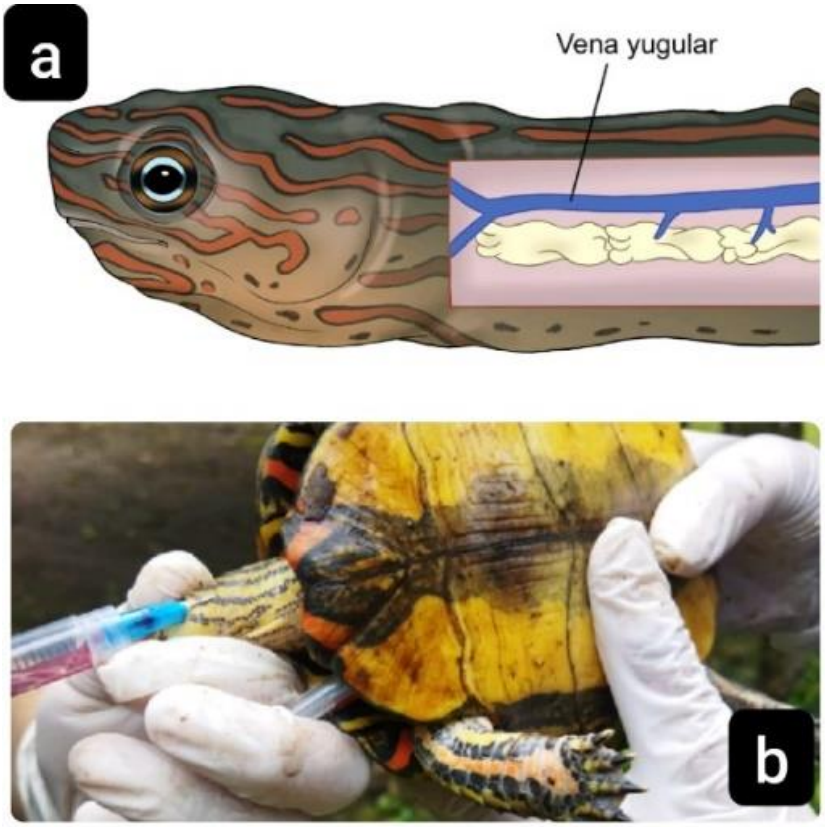
Zhang, Gu, y Li, (2011). A Review of Chelonian Hematology. *Asian Herpetological Research,* vol. 2, *p 12.*

https://dds.sciengine.com/cfs/files/pdfs/view/20950357/92A403CB44FE4EA095E9376AA3698910.pdf

X. ANEXOS

Anexo a.

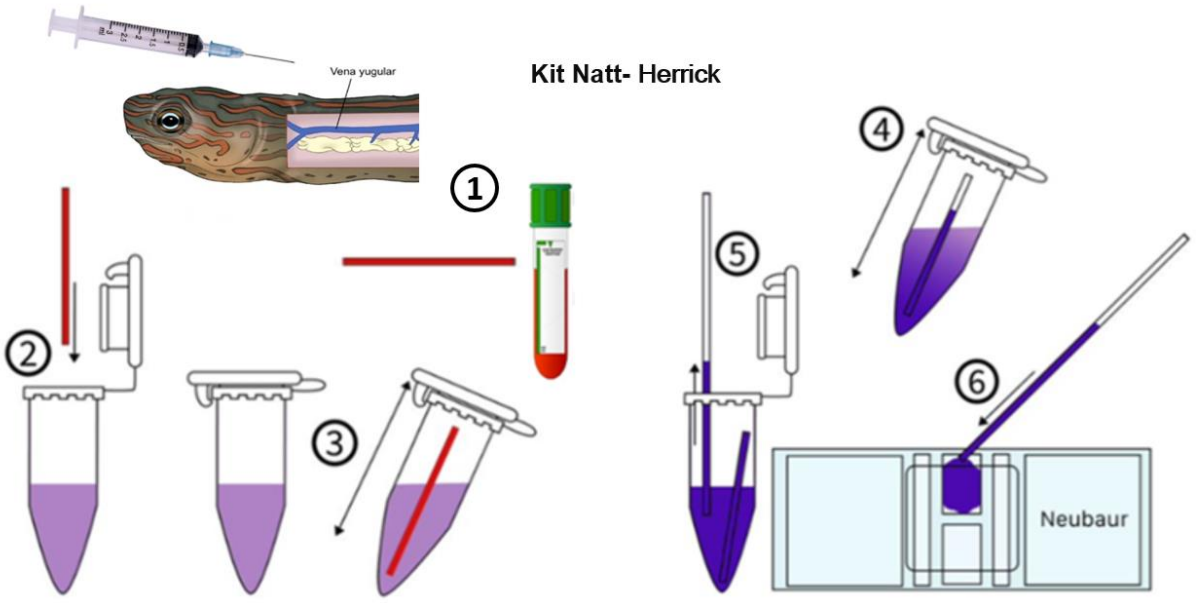
Localización y extracción de la vena yugular



Nota: (a) Localización de la vena yugular. (b) Extracción de sangre de la vena yugular. Fuente: *Bello y Vásquez (2024)*

Anexo b.

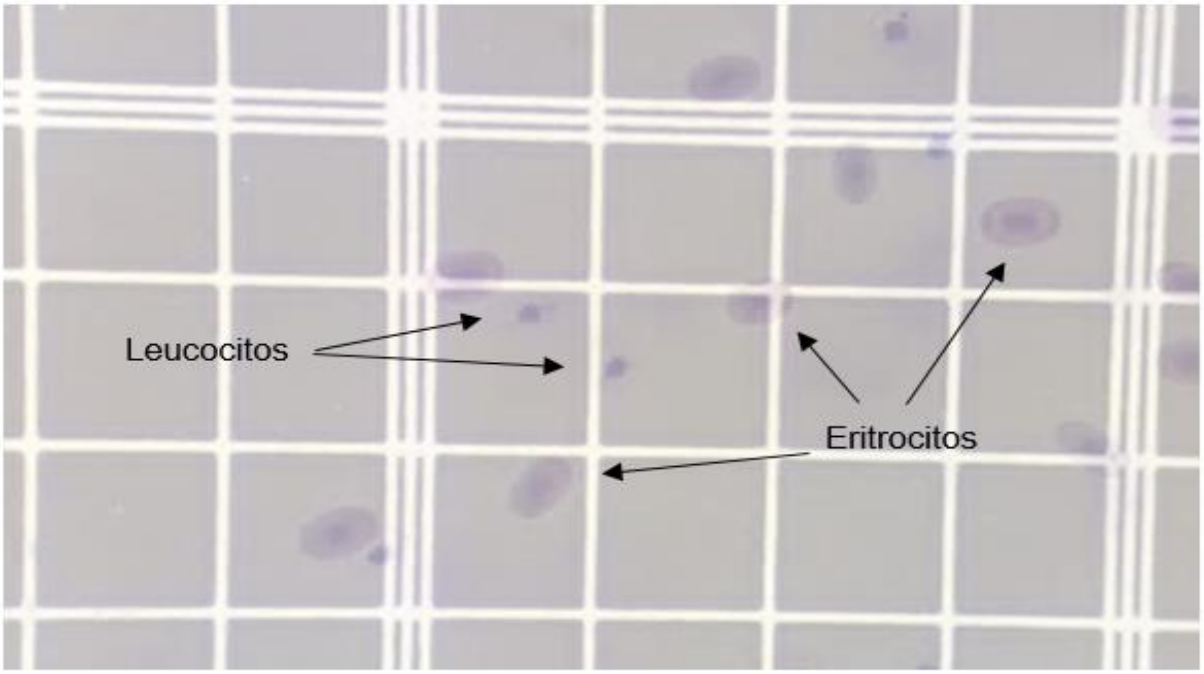
Pasos del Kit individual de Natt- Herrick



Nota: Pasos del kit individual de Natt- Herrick. (1) Llenar el capilar de 5 µL de volumen de sangre de extremo a extremo sin dejar burbujas y se limpia el exterior con papel toalla sin aspirar la sangre. (2) Coloque el capilar de sangre en el vial abierto. (3) Cierre el vial y agítelo hasta que salga toda la sangre del capilar. (4) Dejar el capilar en el vial reposando 5 minutos a temperatura ambiente y agite el vial antes de utilizar la cámara de Neubauer. (5) Abrir el vial y con un capilar extraer el contenido. (6) Colorar de una a dos gotas en la cámara de Neubauer. Fuente: *Bello y Vásquez (2024)*

Anexo c.

Diferenciación entre Leucocitos y eritrocitos en la cámara de Neubauer



Nota: Las células de mayor tamaño son los eritrocitos y las células de menor tamaño los leucocitos. Fuente: *Bello y Vásquez (2024)*

Anexo d.

Medidas obtenidas de las células sanguíneas de las tortugas R. pulcherrima manni

	Célula		Núcleo	
	Largo (µm)	Ancho (µm)	Largo (µm)	Ancho (µm)
	Rango (Mín - Máx)	Rango (Mín - Máx)	Rango (Mín - Máx)	Rango (Mín - Máx)
Eritrocitos	15.00 – 22.00	6.00 – 14.00	5.00 – 11.00	3.00 – 6.00
Trombocitos	3.00 – 5.00	3.00 – 4.00	3.00 - 4.00	3.00 – 3.00
Heterófilos	9.00 – 17.00	9.00 – 15.00		
Linfocitos	4.00 – 7.00	4.00 – 7.00	4.00 – 6.00	4.00 – 6.00
Monocitos	10.00 – 15.00	9.00 – 13.00	5.00 – 9.00	6.00 – 17.00
Basófilos	9.00 – 15.00	9.00 – 19.00		
Eosinófilos	8.00 – 17.00	7.00 – 15.00	5.00 – 9.00	5.00 – 9.00

Nota: La tabla muestra las medidas de las células expresadas en micrómetros.
Fuente: *Bello y Vásquez (2024)*

Anexo e.

Valores hematológicos obtenidos de la tortuga de la especie R. pulcherrima manni (n=50), a partir del rango máximo y mínimo

Hematología	Unidad de medida convencional	Rango (LI - LS)
Eritrocitos	x 10^6/ µL	0.13 – 2.1
Hemoglobina	g/dL	2.66 – 13.66
Hematocrito	%	8 – 41
VCM	fL	111 – 800
CHCM	g/dL	33.3 - 33.3
HCM	pg	15.6 - 641
Trombocitos	µL	31500 - 52500
Proteína plasmática T	g/dL	2.7- 11
Leucocitos	x10^3/ µL	8.4 – 26.2
Heterófilos	%	26 – 46
Linfocitos	%	20 -36
Monocitos	%	3-19
Basófilos	%	4 – 11
Eosinófilos	%	4 – 26

Nota: La tabla muestra los valores hematológicos obtenidos de la tortuga de la especie *R. pulcherrima manni* con medidas convencionales. Fuente: *Bello y Vásquez (2024)*

Anexo f.

Valores hematológicos obtenidos de la tortuga de la especie R. pulcherrima manni (n=50), a partir del rango máximo y mínimo

Hematología	Unidad de medida internacional	Rango (LI -)
Eritrocitos	x 10^6/ µL	0.13 – 2.1
Hemoglobina	g/dL	2.66 – 13.66
Hematocrito	%	8 – 41
VCM	fL	111 – 800
CHCM	g/dL	33.3 - 33.3
HCM	pg	15.6 - 641
Trombocitos	µL	31500 - 52500
Proteína plasmática T	g/dL	2.7- 11
Leucocitos	x10^3/ µL	19 – 59.9
Heterófilos	x10^3/ µL	5.3 – 20.8
Linfocitos	x10^3/ µL	4.48 – 17.97
Monocitos	x10^3/ µL	1.03 – 8.92
Basófilos	x10^3/ µL	0.78 – 12.8
Eosinófilos	x10^3/ µL	1.12 – 12.87

Nota: la tabla muestra los valores hematológicos obtenidos de la tortuga de la especie *R. pulcherrima manni* expresada por medidas internacionales. Fuente: *Bello y Vásquez (2024)*

Anexo g.

Alteraciones patológicas del hemograma general

	Aumento	Disminución
Hematocrito	Hemoconcentración, Policitemia	Anemia, inanición
Hemoglobina	Deshidratación	Policromatofilia, inanición, anemia
Eritrocitos	Pre-hibernación Incremente en eritropoyetina Disminución del volumen de plasma (deshidratación) Hemoconcentración	Deshidratación, inanición, nutrición inadecuada, anemia, eritrolisis (autoinmune), hemoparásitos, hemorragia, post-hibernación, enfermedad crónica, Anemia no regenerativa, enfermedad renal, estrés.
VCM	Respuesta regenerativa	Policromasia
HCM	Anemia hipercrómica	Anemia hipocrómica
CHCM		Policromasia
Leucocitos	Hibernación, enfermedad renal crónica, enfermedad infecciosa, parasitosis, estrés, exposición a toxinas	Inmunodeficiencia
Heterófilo	Estivación, inflamación, enfermedad infecciosa, lesión tisular, estrés neoplasia, leucemia mieloide	Hibernación
Linfocitos	Estivación ,inflamación ,virus, Parásitos (espirongidiasis, anasakiasis, hematozoa), neoplasias linforeticulares	Hibernación, mal nutrición Inmunosupresión (rinitis crónica), ambiente adverso, iatrogénico
Eosinófilos	Hibernación, Parasitación interna Respuesta inmune (fagocitosis de imnunocomplejos en quelonios) Enfermedad autoinmune	Estivación
Basófilos	Parasitosis sanguíneos, enfermedad infecciosa, infección por virus Pirhemoociton, Iridovirus	
Monocitos	Enfermedad crónica, granulomas bacterianos, trematodos (spirochidos), enfermedad infecciosa, cambios antigénicos, clamidiasis	
Trombocitos	Hemorragias, infecciones bacterianas (fagocitosis de bacterias y restos eritrocitarios)	Enfermedades mieloproliferativas, anemias graves

Nota: El cuadro muestra las diferentes alteraciones hematológicas, tanto fisiológicas como patológicas, que se pueden observar en los reptiles, Fuente: Cortez (2015).

Anexo h.

Alteraciones fisiológicas en el hemograma general

	Aumento	Disminución
Hematocrito		
	Edad (adultos) en marinas, tortuga de agua dulce	Estacional (verano).
Hemoglobina	Mauremys leprosa, los valores son más elevados en otoño. En especies acuáticas o semi acuáticas.	
	Sexo (hembras).	Hemodilución (Jovenes), sexo (hembras) y Estacional (verano).
	Respuesta fisiológica a la migración marina en la tortuga boba Caretta caretta.	
Eritrocitos	En la tortuga Mauremys lerprosa se han observado valores incrementados de recuento eritrocitario durante el otoño.	
	Edad (adultos).	
	Edad en tortuga boba Caretta caretta.	Hibernación.
Leucocitos	Sexo (macho).	Estacional (invierno).
Heterófilo	Estacional (valores máximos en verano y más bajos durante la hibernación). Respuesta a la migración en la tortuga Caretta caretta.	Estacional
	Hembras Grávidas	
Linfocitos	Edad(mayores) en T. Caretta caretta	
	Tortugas del género Trachemys.	Estivación.
Eosinófilos	Hibernación.	Respuesta fisiológica a la migración marina en la tortuga Caretta caretta.
Basófilos	Tortugas Trachemys o Chelidra serpentina.	
Monocitos	Edad(mayores) en T. Caretta caretta	
Trombocitos	Período estival	Estacional (invierno).

Nota: el cuadro muestra las diferentes alteraciones hematológicas, tanto fisiológicas como patológicas, que se pueden observar en los reptiles, Fuente: Martínez-Silvestre (2011), Hernández (2015), Vilalta (2021).

Anexo i.

Hoja de datos de Excel de las 50 muestras de sangre tomadas de la especie Rhinoclemmys pulcherrima manni

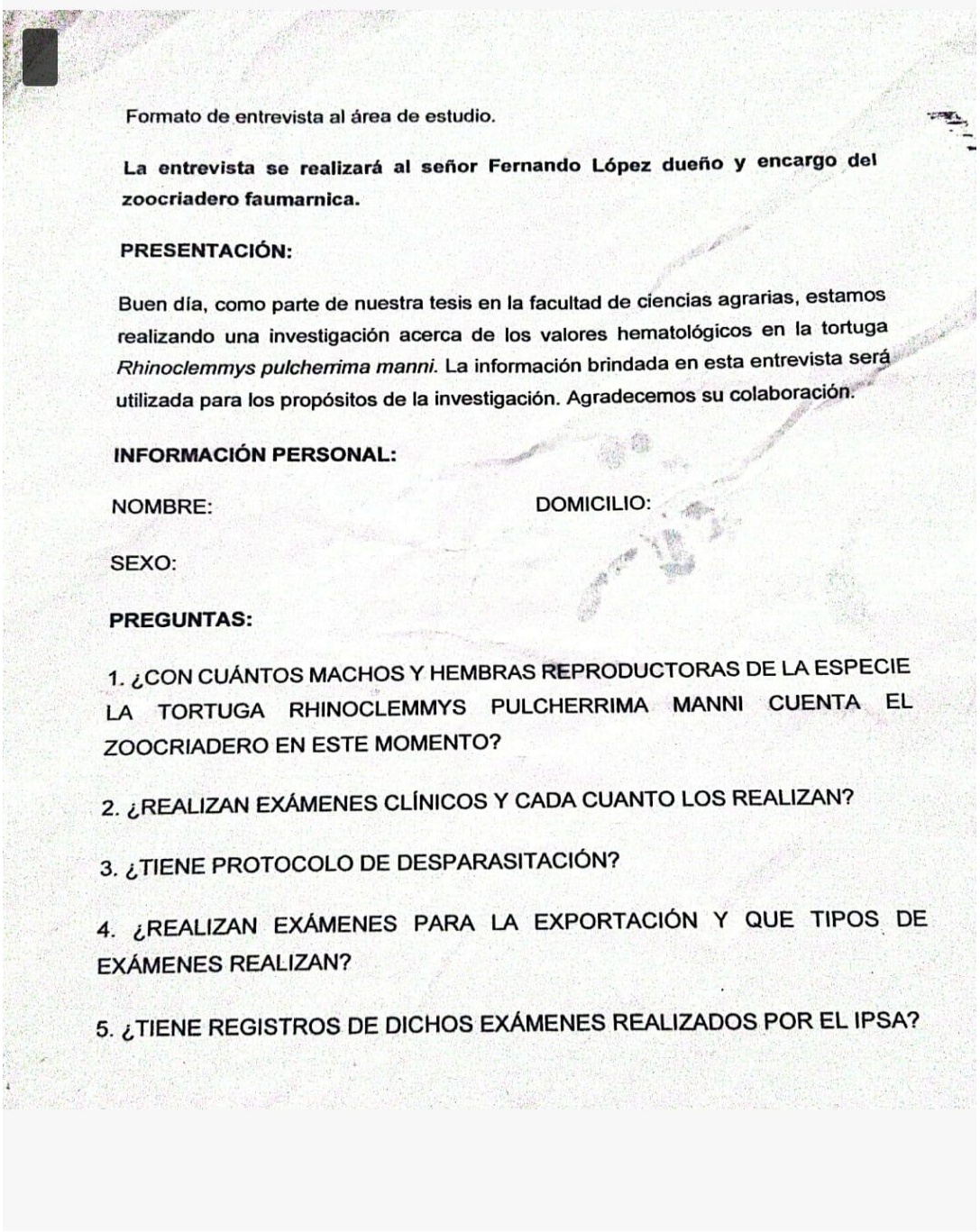
Datos de las tortugas - Guardado

	A	B	C	D
1	Tortuga	Sexo	Edad	
2	1	H	7	
3	2	M	7	
4	3	H	7	
5	4	M	7	
6	5	H	7	
7	6	H	7	
8	7	M	7	
9	8	H	6	
10	9	M	6	
11	10	M	7	
12	11	M	7	
13	12	M	7	
14	13	M	7	
15	14	M	7	
16	15	H	7	
17	16	H	7	
18	17	H	7	
19	18	M	7	
20	19	H	7	
21	20	H	7	
22	21	H	6	
23	22	H	7	
24	23	M	7	
25	24	M	7	
26	25	M	7	

Nota: Hoja de datos de Excel. Columna A es el número de la muestra de la sangre. Columna B es el sexo de la tortuga. Columna C es la edad de la tortuga. Fuente: *Bello y Vásquez (2024)*

Anexo j.

Entrevista al dueño del zoocriadero



Formato de entrevista al área de estudio.

La entrevista se realizará al señor Fernando López dueño y encargo del zoocriadero faumarnica.

PRESENTACIÓN:

Buen día, como parte de nuestra tesis en la facultad de ciencias agrarias, estamos realizando una investigación acerca de los valores hematológicos en la tortuga *Rhinoclemmys pulcherrima manni.* La información brindada en esta entrevista será utilizada para los propósitos de la investigación. Agradecemos su colaboración.

INFORMACIÓN PERSONAL:

NOMBRE: DOMICILIO:

SEXO:

PREGUNTAS:

1. ¿CON CUÁNTOS MACHOS Y HEMBRAS REPRODUCTORAS DE LA ESPECIE LA TORTUGA RHINOCLEMMYS PULCHERRIMA MANNI CUENTA EL ZOOCRIADERO EN ESTE MOMENTO?

2. ¿REALIZAN EXÁMENES CLÍNICOS Y CADA CUANTO LOS REALIZAN?

3. ¿TIENE PROTOCOLO DE DESPARASITACIÓN?

4. ¿REALIZAN EXÁMENES PARA LA EXPORTACIÓN Y QUE TIPOS DE EXÁMENES REALIZAN?

5. ¿TIENE REGISTROS DE DICHOS EXÁMENES REALIZADOS POR EL IPSA?

Nota: Entrevista realizada al dueño del zoocriadero, Fernando López, para la recolección de datos. Fuente: *Bello y Vásquez (2024)*

Anexo k.

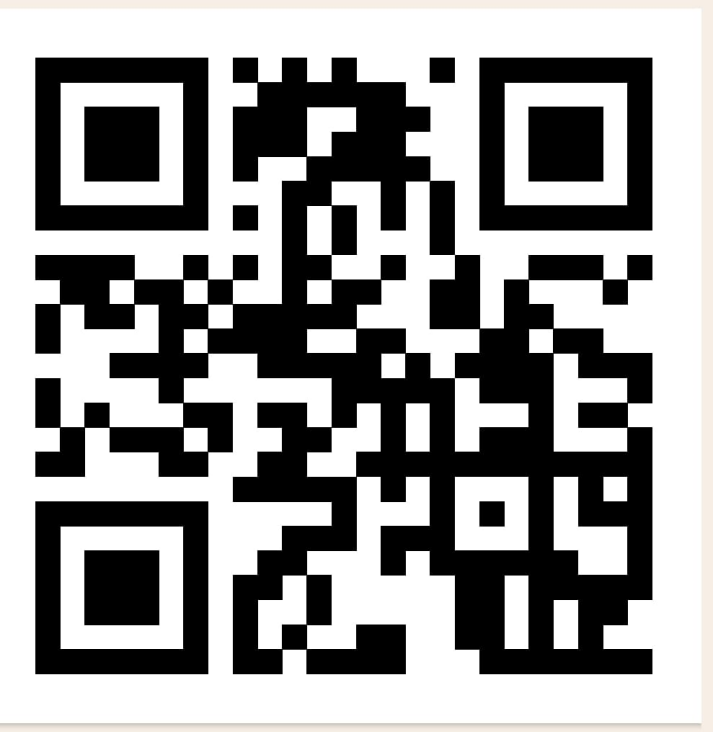
Determinación del Índice corporal

Escala	Características
Muy delgado (1)	• Cavidad celómica: carece de ingesta. • MM: pérdida. • MM, parte superior de la cabeza: Ausente. • Cresta sagital: visible. • Ojos: hundidos o cerrados. • Activo y alerta.
Delgado (2)	• Cavidad celómica: carece de ingesta. • MM: pérdida. • MM, parte superior de la cabeza: palpable. • Cresta sagital: palpable pero no visible.
Ideal (3)	• Cavidad celómica: contiene ingesta (se siente pesado). • MM, parte superior de la cabeza: palpable y aspecto bilobulado. • MM, miembros anteriores y posteriores parte proximal: palpable.
Obesa (4)	• Cavidad celómica: contiene ingesta (más pesado). • MM, parte superior de la cabeza: prominente. • MM, miembros anteriores y posteriores parte proximal: palpable. • MM cara anterior de los miembros anteriores: muy convexa. • Regiones cervicales, axilar y/o inguinal: moderada grasa subcutánea.

Nota. El cuadro muestra la escala de índice corporal en tortugas, la cual se utilizará en la elección de los individuos a estudiarse. Fuente: *Lamberski* (2012, p. 2, 3, 4, 5).

Anexo I.

Código Qr documento académico



Nota. La imagen muestra el Qr, para obtener la imagen del trifoliar con la información resumida de los parámetros hematológicos y morfología célular de la *tortuga de la especie R. pulcherrima manni, obtenidos en esta investigación.* Fuente: *Bello y Vásquez (2024).*