

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**BIOQUÍMICA SANGUÍNEA DE LA TORTUGA VERDE JUVENIL (*Chelonia mydas*)  
EN CERRO VERDE, ROCHA, URUGUAY**

**Por**

**Virginia FERRANDO**

**TESIS DE GRADO** presentada como  
uno de los requisitos para obtener el  
título de Doctor en Ciencias  
Veterinarias (Orientación: Medicina  
Veterinaria)

**MODALIDAD Ensayo Experimental**



**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2010**



## PÁGINA DE APROBACIÓN

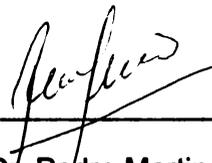
Tesis de Grado aprobada por:

Presidente de Mesa:



Dr. Claudio Borteiro

Segundo miembro (Tutor)



Dr. Pedro Martino

Tercer miembro del tribunal:



Dr. Juan Pablo Damian

Fecha: 22/9/10

Autor:



Virginia Ferrando

II

FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con 12 (doce) votos

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi tutor Pedro Martino, perteneciente a la Cátedra de Análisis Paraclínicos del Laboratorio, que me guió y asesoró con el trabajo.

A José Piaggio, de la Cátedra de Bioestadística por su permanente apoyo y asesoramiento con el análisis estadístico.

A los que colaboraron con el procesamiento de las muestras: Daniel Del Bene y María Luisa Tangacis.

A mi familia y amigos por apoyarme en todo momento.

A mis compañeros de facultad, sobre todo a Fiorella, compañera inseparable; que me acompañaron y ayudaron en esta etapa hermosa de mi vida.

A todos los integrantes de Karumbé, especialmente a Luciana, Andrés y Alejandro que aportaron ideas valiosas a mi trabajo y me facilitaron mucha información, a Gustavo por ayudarme en la colecta de muestras y voluntarios que me ayudaron con la toma de muestras.

## TABLA DE CONTENIDO

Página de Aprobación.....	II
Agradecimientos.....	III
Lista de Figuras y Tablas.....	VI
1) RESUMEN .....	1
2) SUMMARY.....	2
3) INTRODUCCIÓN .....	3
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
4.1. Medicina de la conservación.....	5
4.2. Descripción de la especie <i>C. mydas</i> .....	6
4.3. Pruebas bioquímicas serológicas:.....	8
5) OBJETIVOS:.....	14
6) HIPÓTESIS:.....	15
7) MATERIALES Y MÉTODOS:.....	16
7.1) Zona de estudio: .....	16
7.2) Muestreo de tortugas: .....	16
7.3) Datos morfométricos y ambientales: .....	17
7.4) Toma de muestras y procesamiento: .....	17
7.6) Análisis de datos .....	21
8) RESULTADOS:.....	22
9) DISCUSIÓN: .....	27
10) CONCLUSIONES: .....	31
11) REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	32

## LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

### FIGURAS

- Figura 1. Ubicación del área ACMP Cerro Verde..... 16
- Figura 2. Medición del largo curvo estándar del caparazón.....17
- Figura 3. Fotografía de un individuo de *C. mydas* extrayéndosele sangre.....18
- Figura 4. Esquema de las principales venas para flebotomía.....18

### TABLAS

- Tabla 1. Valores medios, desvío estándar (DS) e intervalos de confianza de un 95% para los analitos serológicos registrados en individuos juveniles de *C. mydas* en el ACMP Cerro Verde durante 2007 y 2010.....23
- Tabla 2. Valores medios, desvío estándar e intervalos de confianza de un 95% para los analitos serológicos registrados en individuos juveniles de *C. mydas* en el ACMP Cerro Verde en el período 2007-2010.....24
- Tabla 3. Coeficiente de correlación, valor *t* de Student y valor *p* de la prueba entre los valores serológicos registrados durante 2007 y 2010 y el peso y LCC de individuos juveniles de *C. mydas* en el ACMP Cerro Verde.....25
- Tabla 4. Coeficiente de correlación, valor *t* de Student y valor *p* de la prueba entre los valores serológicos registrados durante 2010 y la temperatura del agua, de individuos juveniles de *C. mydas* en el ACMP Cerro Verde.....26

## 1) RESUMEN

La bioquímica sanguínea representa una valiosa herramienta diagnóstica para el monitoreo del estado de salud de la fauna silvestre. El objetivo de este trabajo es la obtención de parámetros bioquímicos sanguíneos fisiológicos de ejemplares de tortuga verde juvenil (*Chelonia mydas*) en el ACMP Cerro Verde, Rocha, Uruguay. Se colectaron muestras de sangre de los senos cervicales dorsales durante los meses estivales de trece individuos juveniles de *C. mydas* en 2007 y 26 individuos en el 2010, los cuales fueron capturados con redes de enmalle. Las tortugas fueron medidas y pesadas y la temperatura del agua fue registrada. Un total de 16 parámetros bioquímicos fueron analizados (glucosa, proteínas totales, albúmina, urea, ácido úrico, creatinina, calcio, fósforo, sodio, potasio, cloro, bilirrubina total, colesterol y las enzimas aspartatoaminotransferasa, fosfatasa alcalina y creatinquinasa) mientras que la globulina y el cociente A/G (Albúmina/Globulina) fueron calculados. Los valores obtenidos en el presente trabajo mostraron diferencias con los valores reportados en otras investigaciones de la misma especie. Se compararon las medias de los grupos 2007 y 2010, encontrando diferencias significativas en la bilirrubina total, el calcio, el ácido úrico, la globulina y el cociente A/G. Además, se estudió la relación entre los parámetros bioquímicos y el peso, el largo curvo estándar del caparazón (LCC) y la temperatura del agua. El único parámetro que resultó asociado al LCC y el peso fue el ácido úrico, mientras que la FAS fue el único analito que presentó una relación directa con la temperatura del agua.

## 2) SUMMARY

Blood biochemistry is a valuable diagnostic tool for monitoring wildlife health status. The aim of this study was to obtain physiological blood biochemical parameters from juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) during summer months in the ACMP Cerro Verde, Rocha, Uruguay. Blood samples were collected from the dorsal cervical sinuses; 13 juvenile specimens of *C. mydas* were sampled in 2007 and 26 in 2010, all of them caught with gillnets. The turtles were measured and weighed and the water temperature was recorded. A total of 16 biochemical parameters were analyzed (glucose, total protein, albumin, urea, uric acid, creatinine, calcium, phosphorus, sodium, potassium, chloride, total bilirubin, cholesterol and aminotransferase, alkaline phosphatase and creatinekinase enzymes) while globulin and A/G (Albumin/Globulin) ratio was calculated. The values obtained in this study showed differences with other reports on the same species. Total bilirubin, calcium, uric acid, globulin and the A/G ratio significantly differed between 2007 and 2010. In addition, we studied the relationship between biochemical parameters and weight, the standard curved carapace length (LCC) and water temperature. The only parameter associated with LCC and weight was uric acid, in the other hand, FAS was the only parameter associated with water temperature.

### 3) INTRODUCCIÓN



A causa de la crisis ambiental que sufre el planeta miles de especies son amenazadas encontrándose en peligro de extinción. Como respuesta a esta situación nace una disciplina durante la crisis: "la medicina de la conservación". Sus objetivos son la conservación de la biodiversidad y lograr el reestablecimiento de la salud de los ecosistemas naturales y todos sus componentes (Saggasse, 2007).

La salud del ecosistema marino es muy difícil de evaluar en su totalidad, por lo que son necesarias investigaciones científicas adecuadas y programas de monitoreo a escala mundial. A nivel nacional las agencias de recursos, las universidades y organizaciones no gubernamentales están avanzando en materia de gestión de los ecosistemas y su salud al tiempo que incorporan el concepto tradicional de gestión individual de las especies. Este concepto se aplica claramente a los recursos marinos explotados en la actualidad para el consumo humano así como para los que requieren protección, incluidas los mamíferos y tortugas marinas (Tabor, 2002).

Las tortugas marinas son modelos de especies emblemáticas tanto para la conservación local como internacional puesto que al ser animales que migran miles de kilómetros y tardan décadas en madurar, son indicadores de la salud costera y los ambientes marinos (Frazier, 1999).

En el mundo existen siete especies de tortugas marinas, cinco de las cuales habitan las costas uruguayas: *Chelonia mydas* (tortuga verde), *Caretta caretta* (tortuga cabezona), *Dermochelys coriacea* (tortuga siete quillas), *Lepidochelys olivacea* (tortuga olivácea) y *Eretmochelys imbricata* (tortuga carey) (Achaval, 2001; Estrades *et al.*, 2007). Las dos primeras especies están listadas por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) como especies en Peligro de Extinción, mientras que *D. coriacea* y *E. imbricata* en peligro Crítico y finalmente *L. olivacea* como Vulnerable (UICN, 2008). Asimismo, las cinco especies están incluidas en el Apéndice I de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES). Uruguay forma parte de la Convención de especies Migratorias (CMS) y es parte de la Convención Interamericana para la Protección y Conservación de Tortugas Marinas. La captura incidental y directa de individuos, el consumo de carne y huevos en playas de anidación y la degradación de su hábitat son las principales causas que amenazan la supervivencia de las tortugas marinas a lo largo de su ciclo de vida.

Estos reptiles sufren diversas patologías de origen infeccioso, parasitológico o derivadas de la actividad humana por lo que resulta imperiosa la utilización de estudios paraclínicos con el fin de realizar un diagnóstico acertado y lograr un tratamiento efectivo (Campbell, 2006).

El estudio de los parámetros sanguíneos resultaría una importante herramienta para evaluar el estado sanitario de estos animales y permitir establecer relaciones entre alteraciones de los parámetros sanguíneos y enfermedades específicas (Swimmer, 2000).

Se han desarrollado estudios bioquímicos serológicos en poblaciones de *C. mydas*, en individuos que se encontraban en cautiverio en Brasil (Baldassin *et al.*, 2003) y en

poblaciones silvestres en las costas de Venezuela (Montilla *et al.*, 2008), en el sur de las Bahamas (Bolten y Bjorndal, 1992), y en Hawaii (Aguirre y Balaz, 2000). En estas investigaciones el objetivo fue determinar los valores bioquímicos sanguíneos de base para las diferentes poblaciones en estudio. Aguirre (2000), por ejemplo, observó diferencias de estos valores entre tortugas verdes saludables y con fibropapilomatosis; Bolten (1992) determinó que existía una relación entre los parámetros bioquímicos con el sexo y el tamaño corporal, mientras que Montilla (2008) comparó las medias obtenidas entre subadultos y adultos constatando diferencias entre ambos estadios.

La bioquímica sanguínea también ha sido estudiada en otras especies de tortugas marinas. Particularmente, en Gabón, África, Deem *et al.*, (2006) determinaron los parámetros sanguíneos en *D. coriacea*, mientras que Santoro y Meneses (2007), describieron los mismos para *L. olivacea* en Costa Rica. Finalmente, estudios similares fueron desarrollados en *C. caretta*: en Florida (Bolten, 1994) y Carolina del Norte Estados Unidos (Stamper *et al.*, 2005) y Bahía, Brasil (Pires *et al.*, 2009). Todos estos trabajos tomaron como modelo de estudio individuos silvestres.

Las tortugas marinas son vertebrados que no regulan la temperatura corporal a expensas de energía metabólica, por lo tanto la temperatura del agua y otros factores ambientales afectan su metabolismo así como sus parámetros bioquímicos y fisiológicos (Lutz y Dunbar, 1987). Por lo dicho anteriormente, estos valores variarían según el área geográfica en que se encuentren, no siendo correcto el tomar como referencia los parámetros que se obtuvieron en otras regiones.

En Uruguay no existe información disponible referente a bioquímica sanguínea en tortugas marinas. Considerando que las poblaciones de *C. mydas* se encuentran en peligro de extinción a escala global, así como los diversos impactos de origen antrópico que amenazan la salud de las poblaciones de esta especie, es necesario disponer de técnicas de diagnóstico precisas que permitan desarrollar tratamientos específicos durante la rehabilitación de estos individuos. Por tal motivo, la determinación de los parámetros bioquímicos de *C. mydas* en el Uruguay resulta una prioridad ya que poseer valores de referencia apoyaría la evaluación del estado sanitario de los individuos.

## 4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 4.1. Medicina de la conservación

El ser humano con sus actividades como la agricultura, ganadería desarrollo industrial y crecimiento demográfico ha impactado en los ecosistemas naturales, lo que implica la reducción y modificación de numerosos hábitats naturales, logrando de esta forma un aumento del contacto entre la población humana, los animales domésticos y los animales silvestres (Saggase, 2007)

La disminución de los hábitats ha llevado a que los animales tengan que modificar su distribución. Esto ocurre por ejemplo en las zonas costeras donde su reducción obliga a las especies marinas a concentrarse en pequeñas áreas de alimentación, apareamiento y anidación siendo más susceptibles a la interacción con la pesca, los agentes infecciosos y la polución ambiental (Aguirre *et al.*, 2002)

Ante esta crisis ambiental surge una nueva disciplina la “Medicina de la conservación”. Conceptualmente es el nexo entre la salud humana, la salud ambiental y la salud de los ecosistemas (Ostfeld *et al.*, 2002).

Se define como una ciencia transdisciplinaria, que busca tender puentes entre varias especialidades históricamente separadas, como la medicina humana, la medicina animal, la biología de la conservación, la ecología, la epidemiología, la parasitología, la toxicología, la microbiología, entre otras ramas de las ciencias biológicas y las ciencias sociales (Arrivillaga y Caraballo, 2009).

A pesar de lo expresado anteriormente, la participación de los médicos veterinarios en los programas de conservación es escasa. Uno de los motivos es la falta de disciplinas relacionadas con la ecología y biodiversidad animal a nivel universitario. Sin embargo, la constante presión e interés de los estudiantes en la preservación de la vida silvestre, ha logrado que las universidades empiecen a incorporar estas materias a los programas educativos. La potencialidad del médico veterinario en conservación es muy amplia, ya que es un profesional que maneja herramientas propias de las ciencias biológicas y además profundiza en aspectos relacionados con la medicina, producción y salud pública, lo que le da una visión global de los problemas que atañen a una especie. Para poder definir los problemas a los que una población se enfrenta, se requieren nuevas herramientas para evaluar y monitorear el estado sanitario y su entorno. Un enfoque posible es la incorporación de indicadores ambientales como instrumentos específicos de diagnóstico médico. Esto incluye el desarrollo de nuevas técnicas no invasivas de monitoreo de salud animal y el estudio de especies centinela. También deben identificarse los potenciales riesgos de enfermedades infecciosas zoonóticas en los programas de conservación y cómo prevenirlos (Tabor, 2002).

Algunas funciones que debe realizar el veterinario en programas de conservación incluyen:

- entrenamiento de otros veterinarios, fisiólogos y biólogos
- la prevención del surgimiento de enfermedades emergentes
- el protocolo de manejo de los animales y de bioseguridad
- establecer equipos interdisciplinarios para evaluar y corregir problemas en salud y ecología

Los zoológicos, acuarios y centros de rehabilitación han participado en programas de conservación especialmente en la rehabilitación y reintroducción de especies a la vida salvaje. En estos centros es posible estudiar el comportamiento de las especies, monitoreo sanitario y estudio de enfermedades además de proveer un excelente espacio para educar a la población.

En definitiva, la salud de los ecosistemas y de sus componentes, dependen del esfuerzo conjunto de los profesionales de varias disciplinas. El enfoque de la Medicina de la Conservación representa una excelente oportunidad para la integración de los mismos y es la herramienta necesaria para enfrentar esta grave situación ecológica mundial.

#### 4.2. Descripción de la especie *C. mydas*

La tortuga marina *C. mydas* presenta una distribución cosmopolita, desde los trópicos hasta zonas templadas (Hirth 1997). En el Atlántico Sud Occidental se conoce su presencia desde los 0° hasta los 42°15'S de latitud (Península de Valdez, Chubut, Argentina) (Albareda *et al.* 2003). Es una de las especies de mayor talla habiéndose registrado pesos de hasta 230 kg y largo curvo de caparazón (LCC) de 150 cm. (Hirth, 1997) El tamaño promedio de las hembras para las colonias de Brasil es de 116.8 cm con rangos entre 101 y 143 cm de LCC (Moreira *et al.*, 1995).

Mediante la identificación por marcas metálicas, se han registrado migraciones de miles de kilómetros desde playas de anidación a zonas de alimentación, involucrando varios países. En el Atlántico Sur hembras adultas marcadas en la colonia de la Isla Trindade – Brasil, se han encontrado en el litoral de los estados de Ceará, Espirito Santo y Bahía (Brasil), y en Senegal, África (Marcovaldi *et al.* 2000).

La edad de la madurez sexual de esta especie esta aun en discusión, pero se estima entre 30 a 50 años. En zonas tropicales cercanos a las playas de anidación, ocurre la concentración y apareamientos entre machos y hembras adultos. La ovipostura es generalmente solitaria. Las hembras salen a anidar por la noche en las cercanías de la playa en la que nacieron, fenómeno conocido como filopatría. En una misma temporada reproductiva, pueden desovar de tres a cinco nidadas, con un promedio de 120 huevos por nidada. Los huevos no son cuidados por los padres en la incubación y el sexo del embrión es determinado por la temperatura del nido; con temperaturas promedio cercanas a 29° C nacen una proporción igual de ambos sexos, por debajo nacen más machos y por arriba más hembras. El tiempo de incubación es de 45 a 60 días (Hirth, 1997).

Al eclosionar los huevos, las crías se dirigen al mar y comienzan la fase oceánica, donde se desarrollan los pequeños juveniles, etapa llamada "años perdidos" debido al poco conocimiento que la comunidad científica posee acerca de la misma. Una vez finalizada esta fase, los juveniles de mayor tamaño son reclutados en ambientes neríticos, conocidos como zonas de alimentación y desarrollo, donde convergen individuos de diferentes playas de anidación, pudiéndose identificar su procedencia a través de análisis genéticos (Frazier, 2001). Durante esta fase juvenil tardía, que podría durar hasta 20 años, las tortugas se trasladan entre distintas zonas de alimentación y desarrollo (Musick y Limpus, 1997). Una vez alcanzada la madurez sexual realizan migraciones entre las zonas de alimentación y reproducción.

La costa uruguaya es una importante área de alimentación y desarrollo para individuos juveniles de *C. mydas*, de un tamaño entre 28,0 y 79,5 cm de largo curvo de caparazón (LCC). Se las puede encontrar en todos los departamentos linderos al Río de la Plata y Océano Atlántico sobre todos los departamentos de Rocha, Maldonado y Canelones. Las zonas de mayor presencia de individuos a lo largo de la costa uruguaya son el Área Costero-Marina Protegida (ACMP) Cerro Verde, Punta del Diablo, Parque Nacional Cabo Polonio y zonas adyacentes (Dpto. Rocha), Piriápolis (Dpto. Maldonado) y San Luis (Dpto. Canelones) (Lopez-Mendilaharsu *et al.*, 2006).

Los estudios genéticos desarrollados sugieren que los individuos de *C. mydas* que ocurren en Uruguay provienen de diez playas de anidación del océano Atlántico, siendo Isla Ascensión (Reino Unido) la que haría el principal aporte, seguido por Isla Trinidad (Brasil), Surinam y Guinea Bissau aunque en menores proporciones (Caraccio, 2008).

Esta especie presenta una dieta principalmente carnívora durante la fase oceánica, mientras que durante los estadios juvenil y adulto cambian a una dieta predominantemente herbívora. En Uruguay, los estudios de dieta identifican a las algas del género *Ulva* y *Chondracanthus* como los principales componentes de su dieta (Darré Castell, 2005).

Existe evidencia de que *C. mydas* se desplaza entre zonas de alimentación del Atlántico Sur Occidental. La recaptura de individuos reportados por López-Mendilaharsu *et al.*, (2006) entre Brasil y Uruguay así como el estudio de las migraciones de dos tortugas capturadas en el APCM Cerro Verde mediante telemetría satelital (López- Mendilaharsu M, com. pers., 2007), sugieren que algunos individuos juveniles desarrollan movimientos estacionales. En la trayectoria descrita en la última investigación los animales viajaron desde Uruguay a Brasil en invierno y retornaron en primavera.

Al mismo tiempo, mediante el registro de individuos varados vivos, consta de que cierta parte de la población no migra y permanece en el área durante el invierno (Estrades *et al.*, 2008). Esta permanencia durante los meses más fríos podría implicar un proceso de brumación, el cual se caracteriza por un aletargamiento o dormancia de estos reptiles en respuesta a las bajas temperaturas. Si bien no existe mucha información disponible acerca de este proceso, el mismo ha sido reportado en Baja California (México) en esta misma especie por buzos que han observado a las tortugas reposando sobre el fondo marino. Además la presencia de marcas en plastrón y desarrollo de macroalgas sobre el caparazón indicarían la permanencia en

el fondo marino de estos individuos por períodos de tiempo prolongados (Felger et al., 1976). Castro *et al.* (2007) reportaron la presencia de epibiontes oportunistas típicos de los fondos rocosos submareales en juveniles de *C. mydas* en las costas de Rocha. Es de destacar que en los meses de diciembre-enero los individuos hallados presentaron estados de sucesión avanzados caracterizados por la presencia de comunidades dominadas por mejillones y algas. Estas evidencias apoyan la hipótesis de brumación de algunos individuos durante el invierno en Uruguay.

El ACMP Cerro Verde recientemente ha ingresado al Sistema Nacional de Áreas Protegidas, SNAP, como Área de manejo de hábitat y/o especies. Dicha área es una zona propicia para estudiar la especie *C. mydas* debido a su gran ocurrencia.

#### 4.3. Pruebas bioquímicas serológicas:

La medición de los elementos químicos que componen la sangre junto con otros procedimientos de laboratorio, el examen físico completo y la historia clínica del paciente ayudan al veterinario a llegar al diagnóstico definitivo, emitir un pronóstico y valorar la eficiencia del tratamiento.

##### Glucosa:

El nivel de glucosa sanguínea refleja las condiciones nutricionales, emocional y endócrina de los individuos. Los incrementos de la glucosa sérica se deben a un aumento en la producción o liberación postprandial, excitación o stress (debido a los efectos de los glucocorticoides) y disminución del uso de la glucosa. Por otra parte la hipoglucemia se debe a inanición, exceso de insulina, deficiencia de cortisol, disfunción hepática e incapacidad para producir glucosa. También se observa hipoglicemia en cuadros septicémicos puesto que se utiliza excesivamente la glucosa. En las tortugas el aumento de temperatura provoca una hipoglucemia. (Campbell, 2006).

Las técnicas de medición de la glicemia son principalmente espectrofotométricas, empleando pruebas colorimétricas de punto final o cinéticas. La turbidez afecta la valoración de la glucosa en la prueba de punto final, por lo que las pruebas enzimáticas son más precisas (Latimer, 2005).

##### Proteína total:

De forma colectiva, las proteínas plasmáticas realizan una función nutritiva, ejercen presión coloidal osmótica y ayudan en el mantenimiento del equilibrio ácido-base. Individualmente funcionan como enzimas, factores de coagulación, hormonas y sustancias de transporte. El método principalmente utilizado para medir proteínas en suero, plasma o líquidos de cavidades corporales es el de Biuret. Es una técnica colorimétrica de espectrofotometría que detecta uniones peptídicas. La precisión varía de 1 – 10 g/dl, pero es poco preciso para medir concentraciones menores a 1 g/dl. (Latimer, 2005).

La hiperproteinemia se observa en cuadros de deshidratación, hiperglobulinemias asociadas a enfermedades inflamatorias crónicas, hiperalbuminemias y en casos de hemólisis (Bush, 1999). La hipoproteinemia se asocia a malnutrición crónica así

como a malabsorción, maladigestión, enteropatías perdedoras de proteínas (parasitismo), pérdidas de sangre, hepatitis crónica y enfermedad renal. La lipemia del suero puede dar valores erróneos.

#### Albúmina:

La albúmina se sintetiza en el hígado y constituye un 35-40 % de las proteínas plasmáticas totales. Es la principal responsable de la presión osmótica coloidal de la sangre en los mamíferos, pero no está totalmente comprobado en los reptiles (Dessauer, 1970). Aumenta en cuadros de deshidratación y disminuye cuando se altera la síntesis proteica (inanición, malabsorción de intestino delgado, procesos hepáticos, traumatismos graves) e incremento de pérdidas proteicas en riñón, intestino, por quemaduras, hemorragia y sepsis. La concentración de albúmina se determina por la unión al colorante verde de bromocresol (BCG). El BCG se une a otras proteínas por lo que puede dar resultados falsamente elevados. Con éste método existen diferencias entre especies ya que la albúmina se une con diferente avidéz. La electroforesis de proteínas séricas se puede utilizar como alternativa si el BCG no tiene éxito (Bush, 1999).

#### Globulinas:

Las concentraciones de globulinas en los perfiles bioquímicos rutinarios se calculan restando la concentración de albúmina a las proteínas plasmáticas totales. También puede separarse y cuantificarse de forma directa por electroforesis sérica. La hiperglobulinemia se debe a infección e inflamación. La hipoglobulinemia puede ser observada en estados de inmunosupresión causadas por estrés y enfermedades virales (Bush, 1999).

El cociente albumina/globulina (A/G) se calcula matemáticamente. Este valor sirve para interpretar los resultados:

- si A/G está dentro del intervalo de referencia significa que están alterados de forma uniforme como en casos de hemorragias o en deshidratación;
- si A/G está reducido puede existir proteinuria renal y/o aumento en la producción de inmunoglobulinas por estimulación antigénica;
- si A/G está incrementado, dado que el cuerpo no produce albúmina en exceso, se debe a una falta de producción de inmunoglobulinas.

#### Urea:

La mayoría de la urea plasmática se sintetiza en el hígado a partir del amoníaco que es un producto de desecho del catabolismo proteico. Para medirla se utiliza la concentración de nitrógeno ureico en sangre (BUN) que es un componente de la misma. Al ser el BUN necesariamente menor, se multiplica por un factor de conversión para expresar el valor en concentración de urea.

La urea puede elevarse por:

- aumento de la tasa de degradación de proteínas (dietas ricas en proteínas, deficiencia en carbohidratos, hemorragia intestinal, fiebre y necrosis, hipertiroidismo, ejercicio prolongado, fármacos catabólicos, reducción del anabolismo);

- reducción de la perfusión renal (deshidratación, hemorragia grave, shock, hipoadrenocortisismo, reducción del gasto cardíaco, hipoalbuminemia);
- insuficiencia renal aguda y crónica secundarias a nefritis intersticial aguda, necrosis tubular aguda, nefritis intersticial crónica, amiloidosis, pielonefritis, nefrocalcinosis difusa y neoplasia;
- obstrucción del flujo urinario (alteraciones congénitas, cálculos, neoplasias, coágulos sanguíneos, hernias) y rotura de vejiga.

Los niveles bajos de urea en sangre se producen por la reducción de la síntesis debido a una función hepática anormal o por ingesta reducida de proteínas (Bush, 1999).

#### Creatinina:

La creatinina plasmática se deriva prácticamente en su totalidad del metabolismo catabólico de la creatina que es parte de los tejidos musculares del organismo. La creatina se utiliza para almacenar energía en el músculo en forma de fosfocreatina como fuente de energía rápida. La excreción es realizada exclusivamente por vía renal, se fija libremente y no se reabsorbe. Por lo tanto los niveles de creatinina reflejan excreción y un aumento de la misma es causada por disminución de la perfusión renal (deshidratación), insuficiencia renal aguda y crónica, obstrucción del flujo primario urinario y rotura de vejiga (Bush, 1999).

#### Ácido úrico:

El ácido úrico es el principal catabolito final de la proteína y representa del 80 al 90% del nitrógeno total excretado por los riñones. Su concentración es mayor en carnívoros que en herbívoros. La hiperuricemia está asociada a enfermedad renal (bacteriemia, septicemia, nefrocalcinosis y nefrotoxicidad) o a una reciente ingestión alta de proteínas.

En cuanto a la forma de eliminar el nitrógeno por los riñones existe gran diferencia entre los reptiles puesto que depende del ambiente natural en que se encuentran. Por ejemplo, las tortugas marinas excretan urea, ácido úrico y amoníaco a diferencia de las tortugas dulceacuícolas que eliminan iguales partes de amoníaco y urea y de las tortugas terrestres que excretan el nitrógeno en forma de ácido úrico y sales de uratos que se eliminan en estado semisólido, permitiéndoles ahorrar agua.

Comúnmente se utiliza la concentración de BUN y creatinina para la detección de enfermedad renal en los mamíferos. Sin embargo estos parámetros bioquímicos son malos indicadores del funcionamiento de los riñones en los reptiles, porque la fisiología de estos órganos es diferente. El valor del BUN suele ser bajo en los reptiles (<10 mg/dl) (Campbell, 2006).

#### Bilirrubina total:

La bilirrubina total deriva de la degradación de los eritrocitos senescentes por parte del sistema mononuclear fagocitario, especialmente en el bazo. La bilirrubina restante proviene de la degradación de la mioglobina, de los citocromos y de los eritrocitos inmaduros en la médula ósea. El incremento en plasma se debe a

enfermedad hemolítica, hemorragia interna, hepatopatías y obstrucción del colédoco. Se mide mediante la reacción diazo (Bush, 1999).

**Colesterol total:**

El colesterol total está formado por colesterol libre y ésteres de colesterol. Es el mayor lípido del organismo, precursor de las hormonas esteroideas y componente de la membrana plasmática celular. Su fuente es la dieta y la síntesis hepática. En el caso de haber un exceso de colesterol en el organismo, el mismo es excretado por vía biliar. El aumento de colesterol en sangre se debe a una ingesta grasa, hipotiroidismo, pancreatitis aguda, hiperadrenocortisismo, traumatismo grave, daño hepático primario, obstrucción del tracto biliar, pérdida renal de proteínas o en casos de hemólisis. Las causas de hipocolesterolemia son insuficiencia hepática, dieta pobre en grasas, malabsorción intestinal e insuficiencia pancreática exocrina (Bush, 1999).

**Aspartato aminotransferasa (AST):**

La AST aparece en una amplia variedad de tejidos, pero con una mayor concentración en los músculos cardíaco y esquelético y en el hígado. Se utiliza su cuantificación para evaluar desórdenes musculares y hepáticos. Aumenta en casos de daño hepático, daño muscular esquelético y cardíaco (isquemia), septicemia, toxemia y hemólisis. Su disminución no tiene ninguna implicancia patológica (Bush, 1999).

**Fosfatasa alcalina (FAS):**

La FAS está constituida por un grupo de isoenzimas producidas por las células de varios órganos: hígado, huesos, intestino y riñón. El aumento de FAS se deriva de los dos primeros órganos, ya que las isoenzimas de los últimos tienen una vida media de 3-6 minutos y es originada por su síntesis y no tanto por su liberación. Su incremento se debe a obstrucción biliar, daño hepático, enfermedad ósea extensa o generalizada, neoplasia, septicemia, inanición y regeneración hepática. También está aumentada en animales en crecimiento (Bush, 1999).

**Creatinquinasa (CK):**

La CK tiene tres isoenzimas localizadas principalmente en el músculo esquelético, miocardio y cerebro. Elevaciones en CK es frecuentemente observada en reptiles que ofrecen gran resistencia a la extracción de sangre, también en casos de lesión muscular por traumatismos, inyecciones intramusculares irritantes (enrofloxacina) y enfermedades sistémicas que afecten el músculo cardíaco y esquelético. A pesar de que en el cerebro hay una elevada actividad de CK, no se sabe el efecto que producen las lesiones del SNC en las concentraciones plasmáticas de esta enzima (Campbell, 2006). Es una enzima muy inestable a temperatura ambiente (25°C aprox. 4 horas), en refrigeración (4°C aprox. 8-12 horas) o en estado de congelación (-20 °C, aprox. 2-3 días). La pérdida de actividad puede paliarse con el uso de agentes reductores en las técnicas de análisis (Latimer, 2005).

**Calcio (Ca):**

El calcio es uno de los principales constituyentes del hueso y cumple las funciones de transmisión de impulso nervioso, permeabilidad y excitabilidad de todas las

membranas y activación de sistemas enzimáticos. Es regulado por la hormona paratiroidea, la calcitonina y la vitamina D<sub>3</sub>. Otras hormonas como el estrógeno, la tiroxina y el glucagon influyen en el metabolismo del calcio. Cuando la calcemia disminuye la PTH moviliza calcio desde los huesos, aumenta la absorción intestinal y renal. El rol exacto de la calcitonina aún no se conoce bien en los reptiles, sin embargo se ha observado que aumentos del calcio en sangre producen la liberación de calcitonina desde la glándula ultimobranquial, inhibiendo la reabsorción en el hueso.

La vitamina D<sub>3</sub> activada estimula la absorción de calcio y fósforo en el intestino. La activación de esta hormona se produce gracias al efecto fotoquímico de los rayos ultravioletas (Campbell, 2006). El calcio total se divide en tres fracciones: ionizado o libre, ligado a proteínas, y quelado con aniones. El primero es la porción biológicamente activa, mientras que los otros dos al reducirse no causan patologías. Las causas de incremento en reptiles son: fisiológica (desarrollo folicular en hembras), exceso alimentario o parenteral de Vitamina D<sub>3</sub> o calcio. Otras causas pueden ser hiperparatiroidismo, enfermedades osteolíticas, pero estas patologías son raramente reportadas en reptiles. La acidosis y las muestras lipémicas pueden elevar el Ca. La disminución está asociada a cuadros de alcalosis, hipoparatiroidismo, hipoalbuminemia, malabsorción, inanición, exceso de fósforo, hipoalbuminemia, y hemólisis de la muestra. Se determina por colorimetría que mide el calcio total o por electrodos ion selectivos que miden el Ca ionizado. Esta última técnica está limitada en su utilidad clínica puesto que las muestras deben mantenerse en un medio anaeróbico a 37 grados (Latimer, 2005).

#### Fósforo inorgánico (P):

El fósforo inorgánico deriva de la dieta. Es el mayor constituyente del hueso y componente celular con funciones de almacenamiento, liberación y transferencia de energía y en el metabolismo ácido-base. La homeostasis del fósforo se regula principalmente por la hormona paratiroidea que promueve la liberación de fósforo del hueso y la excreción por los riñones. Su concentración en sangre se mide con métodos colorimétricos. Se encuentra aumentado en dietas con exceso de fósforo, hipervitaminosis D<sub>3</sub>, hipoparatiroidismo, enfermedad renal, trauma severo en tejido, enfermedad osteolítica y hemólisis de la muestra. La hipofosfatemia está asociada a malabsorción, inanición, hipovitaminosis D, hiperparatiroidismo primario, raquitismo y osteomalacia (Bush, 1999).

#### Sodio (Na):

El sodio está en mayor concentración en el líquido extracelular y determina en su mayoría el volumen sanguíneo y la presión osmótica. Es regulado por los riñones y por las glándulas de la sal. Estas glándulas se sitúan en la cabeza, dorsal y medial al ojo y son grandes en todas las tortugas marinas (Wineken, 2004). La hipernatremia se registra en los casos de pérdida excesiva de fluidos (evaporación, diarrea) e ingesta inadecuada de agua. La hiponatremia sucede cuando hay un incremento de la pérdida de sodio (diarrea, insuficiencia renal, desórdenes de la glándula de la sal) y cuando la muestra está lipémica (Bush, 1999).

#### Potasio (K):

El potasio está presente principalmente en el líquido intracelular. Las principales causas de aumento de potasio sanguíneo son la acidosis, la insuficiencia renal y el

daño tisular masivo. Por el contrario las principales causas de disminución son la alcalosis severa y la pérdida por diarrea. Resultados falsamente disminuidos pueden aparecer cuando la muestra está lipemica (Bush, 1999).

Cloro (Cl):

Junto al sodio, el cloro representa el principal componente osmótico activo del plasma en la mayoría de los reptiles. La concentración de cloro es la información menos útil de los electrolitos. La hipercloremia está asociada a deshidratación y a posible enfermedad tubular renal o desórdenes en la glándula de la sal (Campbell, 2006).

## 5) OBJETIVOS

### Objetivo General:

Obtener parámetros bioquímicos sanguíneos fisiológicos de ejemplares de tortuga verde juvenil (*Chelonia mydas*) en el ACMP Cerro Verde, Rocha, Uruguay.

### Objetivos específicos:

Determinar parámetros bioquímicos normales de glucosa, proteínas totales, albúmina, globulina, cociente A/G, urea, ácido úrico, creatinina, calcio, fósforo, sodio, potasio, cloro, bilirrubina total, colesterol y las enzimas aspartato aminotransferasa, fosfatasa alcalina y creatinquinasa en juveniles de *Chelonia mydas*.

Determinar si los valores de los parámetros bioquímicos varían de año a año.

Determinar si existe una asociación entre los parámetros bioquímicos y el peso, largo curvo estándar y la temperatura del agua.

## 6) HIPÓTESIS



- A) El rango de los parámetros bioquímicos normales de la tortuga *Chelonia mydas* juvenil del ACMP Cerro Verde son similares a los rangos encontrados en otras regiones del mundo.
  
- B) Los parámetros bioquímicos normales en la tortuga verde juvenil (*Chelonia mydas*) del ACMP Cerro Verde, no presentan diferencias cuando son evaluados en diferentes años.
  
- C) Los parámetros bioquímicos están asociados al peso, largo curvo estándar del caparazón y temperatura del agua.

## 7) MATERIALES Y MÉTODOS



### 7.1) Zona de estudio:

El Área Costero Marina Protegida (ACMP) Cerro Verde en el Departamento de Rocha ( $33^{\circ}56' S - 53^{\circ} 29' O$ ), Uruguay, corresponde al padrón número 2643, limitando al norte con el Parador Oceánico, al sur con el padrón 2618 (límite del Parque Santa Teresa), al oeste con la Ruta 9 y al este con el océano Atlántico (PROBIDES, 2002). En cuanto al componente marino se toma como base la línea de ribera estableciéndose 5 millas marinas desde la costa (límite del Sitio Ramsar) (Fig. 1).

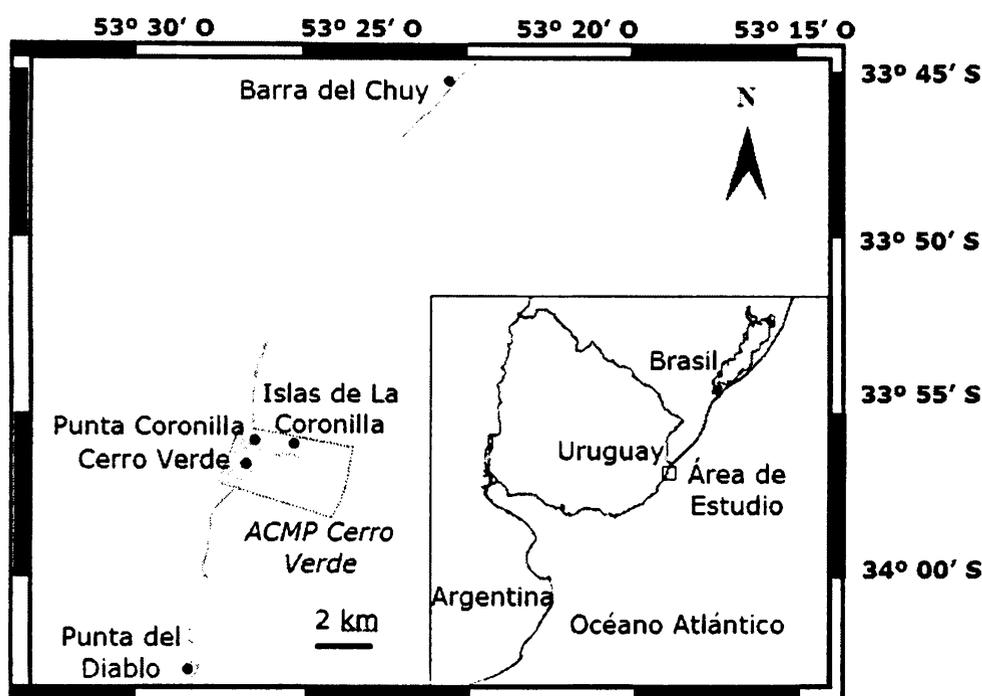


Figura 1. Ubicación del área de estudio. El área sombreada indica el padrón No. 2643, correspondiente al ACMP Cerro Verde, mientras que el área punteada indica el componente marino de la misma.

Esta región a lo largo del año, experimenta variaciones en la temperatura del agua y en la salinidad a causa de las aguas frías proveniente del sur, corriente de las Malvinas (en otoño e invierno), y aguas cálidas provenientes del norte, la corriente del Brasil (en primavera y verano) (Klappenbach y Scarabino, 1969).

### 7.2) Muestreo de tortugas:

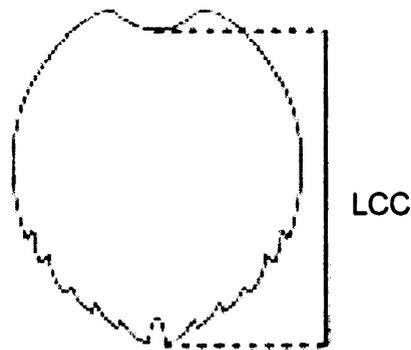
El muestreo se realizó en enero y febrero del 2007 y febrero y marzo del 2010 en el marco de las actividades de investigación y conservación de la tortuga verde juvenil llevadas a cabo por la ONG Karumbé.

La captura se realizó frente a Cerro Verde y Punta Coronilla con una red de enmalle de  $30 \times 2.5$  m con una apertura de malla de 30 cm, calada desde la playa y monitoreada cada 30 minutos. Para la captura en aguas cercanas a Islas de La

Coronilla, a una distancia aproximada de la costa de 1450 m frente a Cerro Verde, la red fue calada desde una embarcación. Solamente se consideraron para este estudio individuos con aparente buen estado de salud (buena hidratación, ausencia de lesiones externas, buena condición corporal (Thompson *al.*, 2009).

### 7.3) Datos morfométricos y ambientales:

Se midió el largo curvo estándar del caparazón (LCC) desde el escudo nucal hasta el extremo posterior de los escudos supracaudales, de acuerdo a la técnica propuesta por Bolten (2000) (Figura 2), utilizando una cinta métrica plástica con una precisión de 0,1 cm y se registró el peso, medido con una bascula romana con una precisión de  $\pm 0,25$  g.



**Fig. 2. Puntos anatómicos anterior y posterior para la medición del largo curvo del caparazón, LCC (Bolten, 2000).**

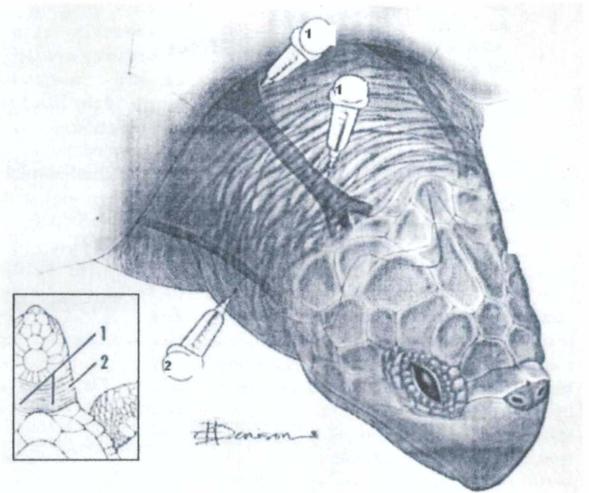
Se registró la temperatura del agua, con un termómetro de mercurio y con una precisión de  $\pm 1$  °C. La temperatura fue medida durante 2010 en una muestra obtenida a lo largo de la columna de agua presente a una distancia menor de 2 metros de la ubicación de la red.

### 7.4) Toma de muestras y procesamiento:

Se colectaron muestras de sangre de los individuos capturados. Para dicha colecta las tortugas fueron colocadas a 45 grados, con la cabeza más abajo que el resto del cuerpo, logrando de esta manera que se ingurgitara las venas cervicales.



**Figura 3. Extracción de sangre de un individuo juvenil *C. mydas*.**



**Figura 4. Sitios para flebotomía. 1. Seno cervico-dorsal. 2. Vena yugular (Whitaker y Krum, 2003).**

Luego de la contención física, la aguja se colocó perpendicularmente a la superficie dorsal del cuello y se insertó a 1-3 cm de profundidad, extrayendo aproximadamente 3 a 5 ml de sangre de los senos cervicodorsales ubicados lateralmente entre 0,5 y 1,0 cm de la línea media del cuello. Estos senos tienen buen acceso puesto que son superficiales, fácilmente ubicables (están rodeados por los músculos cervicales que sirven como referencia) y voluminosos permitiendo extraer una buena cantidad de sangre (Wyneken, 2001) (Figuras 3 y 4). La técnica de utilizar el seno cervicodorsal es mejor que las otras técnicas (vena coccígea dorsal y la vena yugular externa) ya que reduce el estrés y el riesgo de una lesión permanente, requiere poco equipamiento y produce una muestra puramente sanguínea (Owens y Ruiz, 1980).

En los reptiles es posible extraer con seguridad un máximo de 1 ml cada 100 g de peso (Willette-Frahm, 1997).

Con el objetivo de evitar coleccionar sangre dos veces de un mismo individuo, luego del procedimiento las tortugas fueron identificadas con marcas metálicas inconel (modelo 681, National Band and Tg, Kentucky, USA) y liberadas cerca de la zona de captura al ser retiradas las redes.

Las muestras se colocaron en tubos secos y se trasladaron en cajas térmicas a 4 km del área de colecta, donde se encuentra la base científica de Karumbé. En este centro fueron centrifugadas entre una a tres horas después del momento de colecta, a una velocidad de 6000 revoluciones/min por 5 min. El suero obtenido de las muestras en 2007 fue congelado en freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , mientras que las muestras colectadas durante 2010 se congelaron en un tanque de nitrógeno líquido. En ambos casos las muestras fueron analizadas en el transcurso del primer mes posterior al momento de colecta.

Los estudios bioquímicos de los sueros fueron analizados en un Laboratorio de estudios paraclínicos mediante espectrofotometría automatizada Hitachi 912 fabricado en Tokio, Japón y reactivos procedentes de Laboratorio Roche, Alemania.

## 7.5) Análisis y métodos bioquímicos

FAC

### a) Glucosa:

Se utilizó una prueba enzimática colorimétrica. Debido al oxígeno del aire, la glucosa se oxida a gluconolactona bajo la acción de la glucosa oxidasa. Se forma peróxido de hidrógeno que, en presencia de la peroxidasa, oxida la 4-aminofenazona y el fenol a 4-p-benzoquinona-monoimino-fenazona. La intensidad del producto final (colorante) es directamente proporcional a la concentración de glucosa que se mide fotométricamente (Roche, 2008).

### b) Proteína plasmática total:

Se usó un test colorimétrico. En solución alcalina, el cobre bivalente reacciona con el enlace peptídico de las proteínas formando el característico complejo biuret purpúreo. Con tartrato sódico-potásico se impide la precipitación de hidróxido de cobre y con yoduro potásico se inhibe la autorreducción del cobre. La intensidad cromática es directamente proporcional a la concentración de proteína y puede medirse fotométricamente (Roche, 2008).

### c) Albúmina:

Se utilizó una prueba colorimétrica con determinación del punto final. Con un pH de 4,1 la albúmina tiene un carácter suficientemente catiónico como para formar un compuesto con el colorante aniónico verde de bromocresol formando un complejo azul verdoso. La intensidad del colorante azul verdoso es directamente proporcional a la concentración de albúmina medida fotométricamente (Roche, 2008).

### d) Globulina:

Los niveles de globulina se calcularán sumando los valores de proteínas totales y albúmina (Roche, 2008).

### e) Urea:

Se realizó un test UV cinético. La urea es hidrolizada por la ureasa a  $\text{CO}_2$  y amoníaco. A continuación, el amoníaco formado reacciona con el  $\alpha$ -cetoglutarato y el NADH bajo la acción de la GLDH para obtener glutamato y  $\text{NAD}^+$ . La reducción de la absorbancia debida al consumo del NADH se mide cinéticamente. (Roche, 2008)

### f) Creatinina:

Fue medida a través de un test cinético colorimétrico. En una solución salina, la creatinina forma un complejo amarillo-naranja con el picrato. La intensidad cromática es directamente proporcional a la concentración de creatinina y se mide fotométricamente (Roche, 2008).

### g) Ácido úrico:

Se utilizó un test enzimático colorimétrico. El ácido úrico es desdoblado por la uricasa a alantoína y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno luego de pasar por sucesivas reacciones con tampones y enzimas llega a al producto final de un colorante de quinona-diimina, cuya concentración es directamente proporcional a la concentración de ácido úrico que se mide fotométricamente (Roche, 2008).

### h) Bilirrubina total:

Fue medida con un test colorimétrico. El detergente que se adiciona a la muestra provoca la liberación de la bilirrubina indirecta. En un medio fuertemente ácido que contiene sal de 2,5-diclorofenildiazonio, la bilirrubina total se acopla a la azobilirrubilina correspondiente. La intensidad cromática del pigmento azoico rojo formado es directamente proporcional a la concentración de la bilirrubina total y puede ser determinada fotométricamente (Roche, 2008).

i) Colesterol total:

Fue utilizado un test enzimático colorimétrico. Los ésteres de colesterol se desdoblan por la acción de la colesterolestearasa a colesterol libre y ácidos grasos. La colesteroxidasa cataliza entonces la oxidación del colesterol a colest-4-en-3-ona y peróxido de hidrógeno. Bajo la acción catalítica de la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno formado reacciona con 4-aminofenazona y fenol para formar un colorante rojo. La intensidad cromática es directamente proporcional a la concentración de colesterol y puede mostrarse fotométricamente (Roche, 2008).

j) Aspartato aminotransferasa (AST):

Fue medido a través del test UV según un método estandarizado. La enzima AST cataliza la reacción de equilibrio de  $\alpha$ -cetoglutarato + L-aspartato  $\leftrightarrow$  L-glutamato + oxaloacetato. El incremento de oxaloacetato se determina en la reacción indicadora que es catalizada por la malato-deshidrogenasa (oxaloacetato + NADH + H<sup>+</sup>  $\leftrightarrow$  L-malato + NAD<sup>+</sup>). El NADH se oxida a NAD<sup>+</sup>. La tasa de disminución de NADH, que se mide fotométricamente, es directamente proporcional a la tasa de formación de oxaloacetato y con ello, a la actividad de la AST (Roche, 2008).

k) Fosfatasa alcalina (FAS):

Se utilizó una prueba colorimétrica según un método estandarizado. En presencia de iones de magnesio y zinc, las fosfatasas desdoblan el p-nitrofenilfosfato a fosfato y a p-nitrofenol. El p-nitrofenol liberado es proporcional a la actividad de la ALP y se mide fotométricamente (Roche, 2008).

l) Creatinquinasa (CK)

Fue medida con un test UV. Con las diferentes reacciones se forman cantidades equimolares de NADPH y ATP. La velocidad de formación de NADPH medida por fotometría es directamente proporcional a la actividad de CK (Roche, 2008).

m) Calcio:

Se empleó un test colorimétrico con determinación del punto final y blanco en la muestra. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de calcio y se mide fotométricamente (Roche, 2008).

n) Fósforo:

Se midió a través del método de punto final con muestra en blanco. En presencia de ácido sulfúrico, que posee el primer reactivo, el fosfato inorgánico forma un complejo de fosfomolibdato de amonio con el molibdato de amonio (reactivo 2). El complejo se determina fotométricamente en la región ultravioleta (340 nm) (Roche, 2008).

o) Sodio(Na), Potasio(K), Cloro(Cl) :

Se utilizó la metodología de electrodos ión selectivos (Roche, 2008).

## 7.6) Análisis de datos

(F) 44

Se calculó la media, el desvío estándar y el intervalo de confianza para cada parámetro bioquímico considerando las muestras de cada año por separado, así como en su conjunto. Se estudió si existen diferencias significativas entre las medias de los diferentes años a través de la prueba *t* de Student para varianzas desiguales. Asimismo, se desarrolló un análisis de correlación para cada parámetro bioquímico considerando los valores de ambos años de muestreo a fin de verificar el grado de asociación de los mismos con el peso, LCC de la tortuga y/o la temperatura del agua con los valores registrados en 2007 y 2010. Para dicho análisis se utilizó el test *t* de Student y un nivel de significación de  $\alpha = 0,05$  (Sokal y Rohlf, 1995). El programa estadístico utilizado fue Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA).

## 8) RESULTADOS

Se colectaron muestras de sangre de 39 individuos juveniles de *C. mydas* cuyos rangos de LCC y peso fueron de 30,8 a 55,4 cm (media = 38,31 DS = 4,91) y 3,50 a 22,50 kg (media = 6,87, DS = 3,44), respectivamente. Del total de individuos, 13 fueron capturados en el 2007, cuya media de LCC fue de  $39,63 \pm 3,52$  cm (rango = 36,4 a 49,5 cm) y de peso fue de  $7,05 \pm 3,52$  kg (rango = 4,00 a 12,50 kg). Las 26 tortugas restantes fueron capturadas en el 2010 con un valor medio de LCC y de peso de  $37,65 \pm 5,42$  (rango = 30,80 a 55,40 cm) y  $6,75 \pm 3,75$  kg (rango = 3,50 a 22,50 kg), respectivamente. El rango de temperatura del agua registrado para 2010 fue de 22 a 26 °C (media = 24 °C, DS = 2 °C, N = 17).

Los valores medios, el desvío estándar y los intervalos de confianza de un 95 % para los 17 analitos serológicos de 2007 y 2010 se presentan en la tabla 1. Los únicos analitos que mostraron diferencias significativas entre ambos años fueron la bilirrubina total, el calcio, el ácido úrico, la globulina y el cociente A/G.

A excepción del ácido úrico, los análisis de correlación desarrollados entre los valores serológicos registrados durante 2007 y 2010 con el peso y LCC de las tortugas no mostraron diferencias significativas (Tabla 2).

De los analitos estudiados en el 2010, solamente la enzima fosfatasa alcalina mostró relación con la temperatura (Tabla 3).

**Tabla 1. Se presentan los valores medios, desvío estándar (DS) y sus respectivos intervalos de confianza de un 95% para los analitos serológicos registrados en individuos juveniles de *C. mydas* en el ACMP Cerro Verde durante 2007 y 2010. Asimismo, se presenta el valor p de la prueba t de Student.**

	Año 2007			Año 2010			P
	IC 95% de la media			IC 95% de la media			
	Media ± DS	Límite inferior	Límite superior	Media ± DS	Límite inferior	Límite superior	
Glucosa (mg/dl)	143,38 ± 37,42	120,77	166,00	122,99 ± 21,62	114,19	131,65	0.09
Prot. Total (g/dl)	3,52 ± 0,95	2,54	4,09	3,33 ± 0,64	3,07	3,59	0.53
Albumina (g/dl)	1,38 ± 0,45	1,11	1,65	1,60 ± 0,38	1,45	1,75	0.14
Globulina (g/dl) *	2,14 ± 0,54	1,81	2,46	1,73 ± 0,31	1,61	1,86	0.02
A/G (g/dl)*	0,63 ± 0,14	0,54	0,72	0,93 ± 0,14	0,87	0,98	0.00
Urea (mg/dl)	42,15 ± 34,61	21,24	63,07	50,54 ± 36,80	35,67	65,40	0.49
Creatinina (mg/dl)	0,06 ± 0,05	0,03	0,09	0,04 ± 0,05	0,02	0,06	0.21
Ac Úrico (mg/dl)*	0,95 ± 0,67	0,54	1,35	1,45 ± 0,73	1,16	1,75	0.04
B. total (mg/dl)*	0,02 ± 0,02	0,01	0,03	0,23 ± 0,02	0,22	0,24	0.00
Col. total (mg/dl)				175,37 ± 79,92	142,99	207,55	
AST (UI/L)	144,08 ± 65,41	104,55	183,61	110,12 ± 53,05	88,69	131,54	0.12
FAS (UI/L)	112,77 ± 90,93	57,82	167,72	85,04 ± 46,95	66,07	104,00	0.32
CK (UI/L)	3673,0 ± 2939,13	1896,90	5449,10	2901,23 ± 1893,80	2136,31	3666,15	0.40
Sodio (mEq/l)	161,62 ± 6,65	157,60	165,64	158,92 ± 6,85	156,16	161,69	0.25
K (mEq/l)	4,43 ± 0,69	4,01	4,85	4,73 ± 0,86	4,38	5,08	0.25
Ca (mg/dl)*	8,13 ± 1,25	7,38	8,88	7,17 ± 1,43	6,59	7,75	0.04
P (mg/dl)	8,63 ± 1,96	7,45	9,82	7,62 ± 1,54	7,00	8,25	0.12
Cl (mEq/l)	116,92 ± 10,88	110,35	123,50	122,65 ± 11,93	117,83	127,47	0.15

\*Las medias de estos parámetros mostraron diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ) entre los años 2007 y 2010, según la prueba t de Student. Col. Total = Colesterol total, AST= Aspartatoaminotransferasa, FAS= Fosfatasa alcalina, CK= Creatinquinasa, K= Potasio, Ca= Calcio, P= Fósforo, Cl=Cloro

**Tabla 2. Se presentan los valores medios, desvío estándar (DS) y sus respectivos intervalos de confianza de un 95% para los analitos serológicos registrados en 39 individuos juveniles de *C. mydas* en el ACMP Cerro Verde en el periodo 2007-2010.**

Parámetro	Media ± DS	IC 95% de la media	
		lim. Inf.	lim. sup.
Glucosa (mg/dl)	129,74 ± 29,07	120,32	139,17
Prot. Total (g/dl)	3,39 ± 0,75	3,15	3,63
Albumina (g/dl)	1,52 ± 0,41	1,39	1,66
<sup>a</sup> Globulina (g/dl)	1,86 ± 0,44	1,72	2,01
<sup>a</sup> A/G (g/dl)	0,83 ± 0,20	0,76	0,89
Urea (mg/dl)	47,74 ± 35,85	36,12	59,37
Creatinina (mg/dl)	0,04 ± 0,05	0,03	0,06
Ac Úrico (mg/dl)	1,28 ± 0,74	1,04	1,52
B. total (mg/dl)	0,16 ± 0,10	0,12	0,19
AST (UI/L)	121,43 ± 58,87	102,35	140,52
FAS (UI/L)	94,28 ± 65,09	73,18	115,38
CK (UI/L)	3158,49 ± 2285,45	2417,63	3899,34
Sodio (mEq/l)	159,82 ± 6,82	157,61	162,03
K (mEq/l)	4,63 ± 0,81	4,37	4,89
Ca (mg/dl)	7,49 ± 1,43	7,03	7,95
P (mg/dl)	7,96 ± 1,73	7,40	8,52
Cl (mEq/l)	120,74 ± 11,77	116,93	124,56

<sup>a</sup>=parámetro calculado, B.total= bilirrubina total, AST= Aspartatoaminotransferasa, FAS= Fosfatasa alcalina, CK= Creatinkinasa, K= Potasio, Ca= Calcio, P= Fósforo, Cl=Cloro

**Tabla 3. Se presentan el coeficiente de correlación, el t de Student y el valor p de la prueba entre los valores serológicos registrados durante 2007 y 2010 y el peso y LCC de individuos juveniles de *C. mydas* en el ACMP Cerro Verde.**

Parámetros	Peso			LCC		
	r	t <sub>c</sub>	p	r	t <sub>c</sub>	p
Glucosa	0,19	1,18	0,24	0,14	0,85	0,40
Prot. total	0,19	1,19	0,24	0,16	0,97	0,34
Albumina	0,10	0,64	0,52	0,01	0,04	0,96
Globulina	0,23	1,44	0,16	0,26	1,66	0,10
A/G	-0,05	-0,33	0,74	-0,21	-1,29	0,21
Urea	-0,30	-1,90	0,06	-0,30	1,95	0,06
Creatinina	-0,19	-1,16	0,25	-0,18	-1,10	0,28
Ac Úrico	-0,34*	-2,21	0,03	-0,36*	-2,36	0,02
Bilirrubina total	-0,03	-0,20	0,84	-0,16	-1,01	0,31
AST	-0,24	-1,48	0,15	-0,12	-0,76	0,45
FAS	-0,13	-0,83	0,41	-0,08	-0,48	0,63
CK	-0,25	-1,60	0,12	-0,22	-1,35	0,18
Sodio	-0,12	-0,75	0,46	-0,16	-0,98	0,33
Potasio	-0,26	-1,64	0,11	-0,25	-1,58	0,12
Calcio	0,18	1,13	0,26	0,13	0,83	0,41
Fósforo	0,08	0,47	0,64	0,19	1,17	0,25
Cloro	-0,07	-0,42	0,67	-0,13	-0,82	0,42
Colesterol	-0,19	-0,94	0,36	-0,16	-1,01	0,31

r= índice de correlación, t<sub>c</sub>= t calculado, \*p≤ 0,05, <sup>b</sup>N = 26 (solo 2010)

**Tabla 4. Se presentan el coeficiente de correlación, el t de Student y el valor p de la prueba entre los valores serológicos registrados durante 2010 y la temperatura del agua de individuos juveniles de *C. mydas* en el ACMP Cerro Verde.**

Parámetro	Temperatura		
	r	t <sub>c</sub>	p
Glucosa	0,21	0,84	0,41
Proteína Total	0,38	1,62	0,13
Albumina	-0,07	-0,26	0,80
Globulina	0,00	0,00	1,00
A/G	0,39	0,61	0,12
Urea	-0,31	-1,28	0,22
Creatinina	-0,36	-1,48	0,16
Acido Úrico	-0,28	-1,13	0,28
Bilirrubina total	0,07	0,27	0,79
AST	0,44	1,91	2,29
FAS *	0,51	2,29	0,04
CK	0,14	0,53	0,60
Sodio	0,11	0,44	0,66
Potasio	0,38	1,59	0,13
Calcio	0,24	0,97	0,35
Fósforo	-0,04	-0,15	0,88
Cloro	-0,15	-0,58	0,57
Colesterol	0,25	1,00	0,33

\*p ≤ 0,05

## 9) DISCUSIÓN

En este estudio, la bilirrubina total, el calcio, el ácido úrico y la globulina mostraron diferencias significativas entre los dos años, lo que expresa que no pueden adjudicarse únicamente al azar. Estas diferencias son esperables puesto que existen muchos factores ambientales y fisiológicos (edad, sexo, estado fisiológico) que afectarían los valores bioquímicos sanguíneos.

Las medias de los parámetros obtenidas en el presente estudio mostraron algunas diferencias con algunos valores de bioquímica sanguínea registrados por otros autores; como ser las proteínas totales, la globulina, la creatinina, el colesterol, la urea, la fosfatasa alcalina.

La media de las proteínas totales ( $3,39 \pm 0,75$  g/dl) fue inferior a los registrados por Bolten (1992) ( $5,1 \pm 0,8$  g/dl), Hasbun (1998) ( $4,54 \pm 1,05$  g/dl) y Montilla (2008) ( $4,45 \pm 0,64$  g/dl). Las diferencias pueden ser atribuidas al hecho de que en aquellas investigaciones los valores fueron calculados utilizando plasma en lugar de suero y las proteínas en suero son un 5 % menores debido a la ausencia del fibrinógeno (una fracción globulínica) que queda formando el coágulo (Bush, 1999). Otra posible causa de las diferencias encontradas entre este estudio y el de Montilla es que el mismo fue realizado con tortugas subadultas y adultas de la misma especie. A pesar de que en ambas investigaciones no se ha encontrado relación entre el tamaño de las tortugas y las proteínas totales, podría existir una asociación puesto que Bolten (1992), determinó en su investigación que las mismas son el parámetro con mayor correlación ( $r = 0,503$   $p = 0,001$ ). Cabe destacar que el número de muestras utilizado por éste último autor fue 100, por lo que la ausencia de significancia en el presente estudio así como en el desarrollado por Montilla (2008) podría estar asociado al menor número de muestras empleadas ( $n = 39$ ;  $n = 28$ , respectivamente). También fue observado este patrón por Hasbun (1998) y Frair y Shah (1982). En investigaciones desarrolladas en *C. caretta* Stamper *et al.* (2005) no encontraron relación alguna entre las medidas corporales (peso, índice peso/longitud, radio K de Fulton) y los parámetros bioquímicos, a diferencia de Bolten *et al.* (1994) y Casal *et al.* (2009). En el estudio realizado por Kakizoe *et al.* (2007) en Port of Nagoya Public Aquarium (Japón) con cinco tortugas *C. caretta* criadas en cautiverio, a las cuales se les extraía sangre los primeros 12 meses de vida, al 18vo, 24vo y 36vo mes, se constató que las proteínas totales fueron en aumento conforme los animales crecían y que las hembras adultas de ese mismo acuario poseían mayores concentraciones de proteína total que los juveniles.

La albúmina reflejó un valor medio de  $1,96 \pm 0,30$  g/dl en individuos inmaduros de *C. mydas* en los Emiratos Árabes (Hasbun *et al.*, 1998), siendo similar al registrado en este estudio de 1,87g/dl. Este mismo autor halló que la concentración de albúmina en sangre era mayor en las tortugas de mayores tallas.

Los niveles de globulina registrados por Bolten y Bjorndal (1992) ( $3,6 \pm 0,7$  g/dl) así como aquellos encontrados por Aguirre y Balazs (2000) ( $2,7 \pm 0,5$  g/dl) fueron mayores a los registrados en el presente estudio ( $1,87 \pm 0,44$  g/dl).

El coeficiente A/G encontrado en el presente trabajo fue  $0,83 \pm 0,20$ . El cual es superior a los registrados por Bolten *et al.* (1992) ( $0,4 \pm 0,1$ ) y Aguirre y Balazs (2000) ( $0,6 \pm 0,2$ ).

La creatinina obtuvo una media de  $0,04 \pm 0,05$  mg/dl (rango = 0 a 0,2 mg/dl), la cual es menor a la observada en las tortugas verdes inmaduras del Sur de las Bahamas ( $0,5 \pm 0,1$  mg/dl) (rango = 0,3 a 0,9 mg/dl). Las medias ( $0,17 \pm 0,12$  mg/dl) y los rangos (0,03 a 0,42 mg/dl) obtenidos por Montilla (2008) en Alta Guajira en individuos adultos y subadultos de *C. mydas* fueron mayores respecto al presente trabajo. Este autor observó una relación positiva entre los diferentes estadíos siendo que las adultas obtuvieron valores de creatinina más altos que los alcanzados por las subadultas. Dicha correlación fue registrada por Bolten (1992 y 1994) donde se encontró una correlación positiva entre el tamaño corporal y la concentración de creatinina. Esto podría explicar porque los valores obtenidos en las tortugas de la ACMP Cerro Verde no cayeran dentro de los rangos encontrados por Bolten (1992).

En la presente investigación la media del colesterol fue  $175,53 \pm 79,92$  mg/dl, valor cercano al reportado por Montilla (2008) en individuos subadultos y adultos de *C. mydas*. ( $180 \pm 75,97$  mg/dl). Aguirre y Balazs en el año 2000 registraron para una agregación de tortugas verdes juveniles de la Bahía de Kanoche (Oahu) una media de  $140 \pm 43$  mg/dl. Bolten, en el Sur de las Bahamas, registró una media superior ( $217 \pm 53$  mg/dl). En cuanto a la relación con el tamaño corporal, Montilla reportó que existían diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los niveles de colesterol para subadultos y adultos *C. mydas*, lo cual también fue registrado por Hasbun (1998) y Casal *et al.* (2009) en este último caso entre juveniles y hembras anidadoras de *C. caretta*. Este autor asoció este fenómeno a la vitelogénesis, momento en el cual se registran altos valores de colesterol. Sin embargo Bolten (1994) no encontró relación entre el tamaño corporal y el colesterol en individuos de *C. caretta* juveniles y adultos en Puerto Cañaveral.

La urea registró una media de  $47,74 \pm 35,85$  mg/dl superando ampliamente los valores reportados por Bolten (1992) ( $7 \pm 5$  mg/dl) y Montilla (2008) ( $27,60 \pm 17,02$  mg/dl). Por otro lado, Aguirre (1995) realizó un estudio en tortugas verdes juveniles de Hawaii, en el cual se extrae sangre a las 0 y 24 horas poscaptura, registrando valores de 1 mg/dl y 2,20 mg/dl, respectivamente. Asimismo, este autor, obtuvo valores medios de 5,2 mg/dl y 6,1 mg/dl en dos agregaciones juveniles de la misma especie (Aguirre, 2000). Cabe destacar que las medias reportadas en el Océano Pacífico (Hawaii) son menores que en el Atlántico (Sur de las Bahamas, Alta Guajira y Rocha). Dietas altamente proteicas pueden explicar concentraciones elevadas de urea, como se esperaría encontrar en especies carnívoras, por ejemplo, Bolten *et al.* (1994) en Florida, Estados Unidos determinaron un valor de  $39 \pm 28$  mg/dl para tortugas *C. caretta* y en la Península de Nicoya, Costa Rica, la media fue de 37,8 mg/dl en hembras y 46,8 mg/dl en machos de *L. olivacea* (Santoro y Meneses, 2007). Los valores obtenidos en el presente trabajo y aquellos registrados para juveniles de la misma especie por Bolten (1992) y Montilla (2008) sugieren que las tortugas del presente estudio habrían ingerido alimento más rico en proteínas comparado con las *C. mydas* de los casos anteriores, aunque no se realizaron estudios sobre la composición de la dieta. La alimentación en cautiverio podría haber influido en los valores altos de urea ( $135,9 \pm 41,12$  mg/dl), encontrados en las cuatro tortugas verdes de Ubatuba (Baldassin *et al.*, 2003). No se encontró relación entre

los parámetros bioquímicos con el tamaño corporal, a diferencia de lo encontrado por Bolten (1994) y Kakizoe *et al.* (2007) en *C. caretta*.

La concentración media de fosfatasa alcalina ( $94,28 \pm 65,09$  UI/L) presenta gran variabilidad entre diferentes investigaciones: 33,5UI/L en Hawaii (Aguirre y Balazs, 2000), 43 UI/L en el sur de las Bahamas (Bolten *et al.*, 1992), 115,69 UI/L en Alta Guajira (Montilla y *et al.*, 2008). Los valores de FAS suelen ser mayores en animales en crecimiento, sin embargo Montilla muestrea *C. mydas* de categorías más grandes y posee los valores más altos respecto a las otras investigaciones anteriormente mencionadas.

La CK obtuvo una media de  $3158,49 \pm 2285,45$  UI/L. A excepción de Hasbun (1998), no se han registrado concentraciones plasmáticas de CK en los estudios anteriormente citados de *C. mydas* de vida libre. Este autor obtuvo una media muy inferior a la registrada en este trabajo ( $425,0 \pm 176,7$  UI/L). Los valores reportados por el acuario de Nueva Inglaterra para *Lepidochelys kempii* (tortuga lora) rehabilitadas antes de su liberación son menores a los obtenidos en el presente estudio observándose también desvíos estándar extensos (Whitaker BR y Krum H, 2003).

La media de AST reportada por Aguirre y Balaz (2000) ( $158,4 \pm 41,5$  UI/L) en Kanoe Bay y por Bolten y Bjornal (1992) en el Sur de las Bahamas ( $178 \pm 50$  UI/L) son levemente superiores a la media del presente trabajo ( $121,43 \pm 58,87$  UI/L).

Las medias registradas para los minerales y electrolitos en el presente estudio fueron similares a los registrados para *C. mydas* en las investigaciones citadas anteriormente. Solo el fósforo ( $7,95 \pm 1,73$  mg/dl), obtuvo valores diferentes a Bolten (1992) ( $6,7 \pm 1,2$  mg/dl), Hasbun (1998) ( $8,53 \pm 1,6$  mg/dl) y Montilla (2008) ( $4,93 \pm 1,12$  mg/dl). La variación del fósforo plasmático en estos estudios podría deberse a diferencias alimentarias.

El valor medio del ácido úrico obtenido en este estudio fue de  $1,28 \pm 0,75$  mg/dl, el cual es similar al de Aguirre (2000) ( $1,3 \pm 0,8$  mg/dl) y Bolten (1992) ( $1,5 \pm 0,6$  mg/dl). Mientras que Hasbun (1998) obtiene el valor más bajo ( $0,83 \pm 0,56$  mg/dl) y Montilla (2008) el más alto ( $3,43 \pm 1,47$  mg/dl). Todos los estudios mencionados fueron realizados con *C. mydas* juveniles de rangos de LCC similares, a excepción de Montilla que estudió tortugas verdes subadultas y adultas. Esta diferencia podría ser atribuida a la relación directa encontrada por Bolten (1994) en tortugas cabezonas de Puerto Cañaveral. Sin embargo el ac. úrico mostró una correlación inversa con el largo curvo estandar de caparazón en el presente estudio y con el largo recto estándar de caparazón (LRC) en la investigación de Bolten (1992). Cabe destacar que la variabilidad en el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) del valor bioquímico explicada por el largo de caparazón (LCC o LRC) es baja, de tan sólo 9% en el presente estudio, 5% en Bolten (1994) y 15% en Bolten (1992).

En la investigación realizada por Bolten (1992) en el sur de las Bahamas, se registró una correlación con el tamaño corporal de 13 parámetros bioquímicos de un total de 26, mientras que en el presente estudio sólo fue registrado en uno de 17. Esta diferencia puede deberse al tamaño de la muestra, puesto que Bolten desarrolló su análisis en un número mucho mayor de individuos ( $n = 100$ ).

En cuanto al efecto de la temperatura sobre los parámetros bioquímicos, a excepción de la FAS, no se encontró relación entre los valores serológicos y la temperatura del agua. Estos resultados son contrarios a los encontrados por Bolten (1994) en un estudio desarrollado en *C. caretta* donde estableció que de 26 analitos estudiados sólo el cloro, la fosfatasa alcalina y el hierro no tenían una variación estacional significativa e incluso que aquellos parámetros que guardaban relación con la temperatura poseían los niveles altos en los meses calurosos excepto en la urea que disminuía. El hecho de que el presente estudio no tiene un gran rango de temperatura (22 a 26 °C), explicaría porque solo se encontró efecto de la misma en un solo analito, puesto que Bolten (1994) desarrolló su estudio durante todas las épocas del año. En un estudio realizado con cinco *C. mydas* a las cuales se las mantuvo en condiciones ambientales controladas (temperatura y fotoperiodo), con iguales dietas alimentarias, se determinó que no había diferencias significativas en los valores plasmáticos de glucosa, sodio, potasio, calcio, fósforo, cloro y globulinas al realizarlo en condiciones invernales y estivales. Sin embargo, la albúmina y la proteína total tuvieron concentraciones menores durante la exposición invernal, al inverso que la CK (Southwood *et al.*, 2003).

## 10) CONCLUSIONES

Los valores medios de las proteínas totales, la globulina, la creatinina, el colesterol, la urea, la fosfatasa alcalina y el ácido úrico de las tortugas verdes del Cerro Verde, no cayeron dentro de los encontrados en otras publicaciones de bioquímica sanguínea en *Chelonia mydas*, realizados en otras regiones del mundo.

Los únicos analitos que mostraron diferencias significativas entre el año 2007 y 2010 fueron la bilirrubina total, el calcio, el ácido úrico, la globulina y el cociente A/G.

A diferencia de otras publicaciones donde los análisis fueron desarrollados en un número de individuos mucho mayor, no se encontraron asociaciones entre el tamaño corporal y los analitos a excepción del ácido úrico. Es por tanto deseable realizar futuros estudios con mayor cantidad de individuos.

La fosfatasa alcalina fue el único parámetro que mostró una asociación significativa y positiva con la temperatura del agua. Futuras investigaciones deberían realizarse en diferentes épocas del año, permitiendo analizar posibles variaciones de los valores bioquímicos en rangos más amplios de temperatura. Asimismo deberá evaluarse la influencia del sexo sobre los valores de los parámetros bioquímicos.

Los parámetros bioquímicos además de ser afectados por factores como la edad, el estado fisiológico, el sexo, la temperatura, el fotoperiodo también son influenciados por el grado de contaminación del ambiente, por lo que es importante el estudio de posibles variaciones serológicas asociadas a los diferentes contaminantes.

La información generada en este trabajo servirá de herramienta en la rehabilitación de estos individuos, puesto que aporta los primeros valores de referencia para el Uruguay.

Es prioritario el estudio de las especies en peligro de extinción profundizando el conocimiento en materia sanitaria así como maximizar su difusión. Este mecanismo de intercambio facilitaría el diagnóstico de causas de eventos de mortandad en la fauna silvestre, con el fin de conservar la diversidad biológica, evitando la desaparición de especies en riesgo.

## 11) REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1) Achaval, F. (2001) Actualización sistemática y mapas de distribución de los reptiles del Uruguay. *Smithsonian Herpetological Information Service* 129:1-21.

2) Aguirre, A. A., Balaz, G. H. (2000) Blood biochemistry values of green turtles, *Chelonia mydas*, with and without fibropapillomatosis. *Comparative Haematology International* 10:132-137.

3) Aguirre, A. A., O'Hara, T. M., Spraker, T. R., Jessup, D. A. (2002) Monitoring the health and conservation of marine mammals, sea turtles, and their ecosystems. En: Aguirre, A. A., Ostfeld, R. S., Tabor, G. M., House, C., Pearl, M. C.eds. *Conservation medicine: ecological health in practice*. Nueva York. Oxford University Press. p. 79-94.

4) Albareda, D. A., Prosdociami, L., Giangiobbe, A., Rodríguez, S., Massola, V. (2003). Bases para la creación del Programa Regional de Investigación y Conservación de Tortugas Marinas en la Argentina (PRICTMA), Informe Diagnóstico. Buenos Aires. PRICTMA. 16 p.

5) Arrivillaga, J., Caraballo, V. (2009) Medicina de la Conservación. *Revista Biomédica* 20:55-67.

6) Baldassin, P., Rondon, M., Silva, M. M. (2003) Hematologia e bioquímica sanguínea das tartarugas marinhas mantidas em cativeiro na base do projeto TAMAR-IBAMA em Ubatuba-SP. VII Congresso e XII Encontro da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens, 2003, San Pablo, Brasil. p. 44. Disponible en: <http://www.abravas.com.br/anais/2003/35.pdf> Fecha de consulta: 22/8/10.

7) Bolten, A. B., Bjorndal, K. A., Eliazar, P. J., Gregory, L. F. (1994) Seasonal abundance, size distribution, and blood biochemical values of loggerheads (*Caretta caretta*) in Port Canaveral Ship Channel, Florida. *NOA Technical Memorandum NMFS-SEFSC*. Miami. NMFS. 39 p

8) Bolten, A. B., Bjorndal, K. A. (1992) Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the Southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. *Journal of Wildlife Diseases* 28: 407-413.

9) Bolten, A. B. (2000) Técnicas para la medición de tortugas marinas. En: Eckert, K. L., Bjorndal, K. A., Abreu-Grobois, F. A., Donnelly, M. Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group. p.126-131.

10) Bush, B. M. (1999) Interpretación de los análisis de laboratorio para clínicos de pequeños animales. Barcelona. Ediciones S. 616 p.

11) Campbell, T. W. (2006) Clinical pathology of reptiles. En: Mader, R. D. *Reptile Medicine and Surgery*, 2a. ed., Missouri. Elsevier. p. 453-470.

12) Caraccio, M. N., 2008. Análisis de la composición genética de *Chelonia mydas* (tortuga verde) en el área de alimentación y desarrollo de Uruguay. Tesis de

grado. Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 89 p.

13) Deem, S. L., Dierenfeld, E. S., Sounguet, G. P., Alleman, A. R., Cray, C., Poppenga, R. H., Norton, T. M., Karesh, W. B. (2006). Blood values in free-ranging nesting leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) on the coast of the Republic of Gabon. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 37: 464–471.

14) Dessauer, H. C. (1970) Blood chemistry of reptiles: physiological and evolutionary aspects. En: Gans, C. Ed. *Biology of the Reptilia*. Nueva York. Academic Press. p.1-72.

15) Estrades, A., Caraccio, M. N., Scarabino, F., Caymaris, H., (2007) Presencia de la tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*) en aguas Uruguayas. III Jornadas de Conservación e Investigación de Tortugas Marinas en el Atlántico Sur Occidental, Piriápolis, Uruguay. p. 51.

16) Estrades, A., Ferrando, V., Gagliardi, F. (2008) Marine turtle strandings and rehabilitation in Uruguay. Annual Report 2007 – 2008. Final Report IFAW Latin America. 14 p.

17) Felger, R. S., Clifton, K., Regal, P. (1976) Winter dormancy in sea turtles: independent discovery and exploitation in the Gulf of California by two local cultures. *Science*. 191: 283-285.

18) Frair, W., Shah, B. K. (1982). Sea turtle blood serum protein concentrations correlated with carapace lengths. *Comparative Biochemistry and Physiology* 73: 337-339.

19) Frazier, J. (1999) Community based conservation. En: Eckert, K. L., Bjornald, K. A., Abreu-Grobois, F. A., Donnelly, M. eds. *Research and management techniques for conservation of sea turtle*. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication. p. 15-18.

20) González, V., Álvarez, K., Prosdocimi, L., Inchaurreaga, M. C., Dellacasa, R., Faiella, A., Echenique, C., González, R., Andrejuk, J., Mianzan, H., Campagna, C., Albareda, D. A. (2009). Las aguas costeras de Argentina como hábitat templado de alimentación y desarrollo para las tortugas marinas. En: Prosdocimi, L., González, V. eds. *IV Jornadas de Conservación e investigación de Tortugas Marinas del Atlántico Sur Occidental (ASO)*. Mar del Plata, Argentina. p. 43-44.

21) Hasbun, C. R., Lawrence, A. J., Naldo, J., Samour, J. H., Al-Ghais, S. M. (1998) Normal blood chemistry of free-living green sea turtles, *Chelonia mydas*, from the United Arab Emirates. *Comparative Haematology International* 8:174-177.

22) Hirth, H. F. (1997). Synopsis of biological data on green turtle (*Chelonia mydas*) (Linnaeus 1758). *Biological Report*, 97. Washington. U.S. Fish and Wildlife Service. 120 p.

23) International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources, World Conservation Union (IUCN) (2010) Red List of threatened species. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/details/4615/0>. Fecha de consulta: 10/7/10.

24) Kakizoe, Y., Sakaoka, K., Kakizoe, F., Yoshii, M., Nakamura, H., Kanou, Y., Uchida, I. (2007). Successive changes of hematologic characteristics and plasma chemistry values of juvenile loggerhead turtles (*Caretta caretta*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 38: 77–84.

25) Klappenbach, M. A., Scarabino, V. (1969) El borde del mar. Montevideo, Nuestra Tierra 68 p.  
Disponible en: [http://www.periodicas.edu.uy/Nuestra\\_tierra/pdfs/Nuestra\\_tierra02.pdf](http://www.periodicas.edu.uy/Nuestra_tierra/pdfs/Nuestra_tierra02.pdf)  
Fecha de consulta: 10/8/10.

26) Latimer, K. S., Mahaffey, E. A., Prasse, K. W. (2005). Duncan & Prasse's. *Patología Clínica Veterinaria*. 4a. ed. Oxford. Multimédica. 551 p..

27) López-Mendilaharsu, M., Estrades, A., Caraccio, M. N., Calvo, V., Hernandez, M., Quirici, V. (2006) *Biología, Ecología y Etología de las tortugas marinas en la zona costera uruguaya*. En: Menafrá, R., Rodríguez, L., Scarabino, F., Conde, D. eds. *Bases para la conservación y manejo de la costa Uruguaya*. Montevideo. Vida Silvestre. p. 247-257.

28) Marcovaldi, M. Â., Da Silva, A. C. C. D., Gallo, B. M. G., Baptistotte, C., Lima, E.P., Bellini, C., Lima, E.H.S.M, Castillos, J.C., Tom, J.C.A., Moreira, L.M.P., Sanches T.M., (2000) Recaptures of tagged turtles from nesting and feeding grounds protected by Projeto TAMAR-IBAMA, Brasil. *Proceedings of the Nineteenth Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. U.S. Dept. Commerce. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-443. Miami. NMFS. p. 164-166.

29) Montilla, A. J., Hernandez, J. L., Bravo, A. R., Vera, V. J., Mesa, J. F. (2008) Valores bioquímicos en sangre de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presentes en la Alta Guajira, Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ* 18:431-436.

30) Moreira L., Baptistotte, C., Scalfone, J., Thomé, J.C., De Almeida, A.P. (1995) Occurrence of *Chelonia mydas* on the Island of Trinidad, Brazil. *Marine Turtle Newsletter* 70: 1-2.

31) Musick, J. A., Limpus, C. J. (1997) Habitat utilization and migration in juvenile sea turtles. En: Lutz, P. L., Musick J. A. eds. *The biology of sea turtles*. Boca Raton, Florida. CRC Press. p. 137-163.

32) Ostfeld, R. S., Meffe, G. K., Pearl, S. (2002) *Conservation Medicine: The birth of another Crisis Discipline*. En: Aguirre AA, Ostfeld RS, Tabor GM, House C, Pearl MC *Conservation medicine: ecological health in practice*. Nueva York. Oxford University Press. p. 17-26.

33) Owens, D. W., Ruiz, G. W. (1980) New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetológica* 36:17-20.

- 34) Peter, I. Lutz, P. I., Dunbar-Cooper, A. (1987) Variations in the blood chemistry of the loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*. Fishery bulletin 85: 37-43.
- 35) Pires, T. T., Rostan, G., Bittencourt, T. C., Guimarães, J. E. (2009) Hemograma e bioquímica sérica de tartarugas cabeçudas (*Caretta caretta*) de vida livre e mantidas em cativeiro, no litoral norte da Bahia. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science 46: 11-18.
- 36) PROBIDES 2002. Propuesta de uso público y conservación para el tramo costero Santa Teresa -Cerro Verde. Rocha, Uruguay. Probides. 20 p.
- 37) Roche (2007). Calcio. Mannheim. Roche. v. 11. 5p.
- 38) Roche (2007). Método Jaffé para la determinación de creatinina, cinético con medición del blanco y compensado. Mannheim. Roche. v. 9. 4p.
- 39) Roche (2008). Método de determinación de la albúmina con verde de bromocresol. Mannheim, Roche. v. 13. 4p.
- 40) Roche (2008). Test de aspartato aminotransferasa, conforme con la IFCC, con/sin activación por fosfato de piridoxal. Mannheim. Roche. v. 5. 4p.
- 41) Roche (2008). Alkaline phosphatase optimized. Mannheim. Roche. v. 4. 3p.
- 42) Roche (2008). Bilirubina DPD. Mannheim. Roche. v. 9. 4p.
- 43) Roche (2008). Glucose GOD-PAP. Mannheim. Roche. v. 10. 4p.
- 44) Roche (2008). Proteína total. Mannheim. Roche. v. 10. 4p.
- 45) Roche (2008). Inorganic phosphorus. Mannheim, Roche. v. 10. 4p.
- 46) Roche (2008). Test UV cinético per l'urea/l'azoto ureico. Mannheim. Roche. v. 11. 5 p.
- 47) Roche (2008). Uric Acid Plus. Mannheim. Roche. v. 13. 4p.
- 49) Roche (2009). Colesterol CHOD-PAP. Mannheim. Roche. v. 11. 4p.
- 50) Roche (2009). Creatincinasa, líquido, conforme con la IFCC. Mannheim. Roche. v. 9. 4p.
- 51) Sagasse, M. D. (2007). Medicina de la conservación, enfermedades y aves rapaces. Hornero 22:117-130.
- 52) Santoro, M., Meneses, A. (2007) Haematology and plasma chemistry of breeding olive ridley sea turtles (*Lepidochelys olivácea*). Veterinary Record 161: 818-819.

- 53) Stamper, M. A., Harms, C., Epperly, S. P., Braun-McNeill, J., Avens, L., Stoskopf, M. K., (2005). Relationship between barnacle epibiotic load and hematologic parameters in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*), a comparison between migratory and residential animals in Pamlico Sound, North Carolina. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 36: 635–641.
- 54) Sokal, R. R., Rohlf, F. J., (1995) *Biometry*. 3a. ed. New York, Freeman, 887 p.
- 55) Southood, A. L., Darveau, C. A., Jones, D. R. (2003) Metabolic and cardiovascular adjustments of juvenile green turtles to seasonal changes in temperature and photoperiod. *Journal of Experimental Biology* 206: 4521–4531.
- 56) Swimmer, J. Y. (2000) Biochemical responses to fibropapilloma and captivity in the green turtle. *Journal of Wildlife Diseases* 36: 102–110.
- 57) Tabor, G. M. (2002). Defining conservation medicine. En: Aguirre, A. A., Ostfeld, R. S., Tabor, G. M., House, C., Pearl, M. C. *Conservation medicine: ecological health in practice*. Nueva York. Oxford University Press. p. 8-16.
- 58) Thomson, J. A., Burkholder, D., Heithaus, M. R., Dill, L. M. (2009) Validation of a rapid visual-assessment technique for categorizing the body condition of green turtles (*Chelonia mydas*) in the Field. *Copeia* 2: 251–255.
- 59) Willette-Frahm, M. (1997) Técnicas de obtención de sangre en anfibios y reptiles. En: Bonagura, J. D. *Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales*. México. Mack Graw-Hill Interamericana. p. 1451-1455.
- 60) Whitaker, B. R., Krum, H. (2003) Medical management of sea turtles in aquaria. En: Fowler, M.E., Miller, R.E. *Zoo and wild animal medicine current therapy*. 5a ed. Missouri. Elsevier. p. 217-231.
- 61) Wyneken, J. (2004) *La Anatomía de las Tortugas Marinas*. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470. Miami, NMFS. 172 p.