

Oscilaciones del eritrograma en caimanes criados por sistema *ranching*

Barboza, N.N.; Mussart, N.B.; Coppo, J.A.; Fioranelli, S.A.; Koza, G.A.

Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. Tel/fax 03783-425753. E-mail: jcoppo@vet.unne.edu.ar.

Resumen

Barboza, N.N.; Mussart, N.B.; Coppo, J.A.; Fioranelli, S.A.; Koza, G.A.: Oscilaciones del eritrograma en caimanes criados por sistema *ranching*. Rev. vet. 18: 2, 84–91, 2007.

Con el objetivo de establecer valores de referencia y oscilaciones fisiológicas del eritrograma de caimanes autóctonos del nordeste argentino mantenidos en cautiverio mediante un sistema *ranching*, se investigaron ejemplares sub-adultos de *Caiman latirostris* (n=109) y *Caiman yacare* (n=114). Mediante técnicas específicas para reptiles se determinaron los valores de hematocrito ($21,2\pm 3,5\%$), eritrocitos ($0,49\pm 0,09$ T/l), VCM (428 ± 36 fl), hemoglobina ($6,12\pm 1,08$ g/dl), HCM (125 ± 19 pg) y CHCM ($30,1\pm 3,7\%$). En *C. yacare* fueron más altas las concentraciones de eritrocitos y más bajos los índices VCM y HCM ($p < 0,05$). En el conjunto de ambas especies, los eritrocitos fueron más numerosos en los machos; VCM y HCM fueron más altos en hembras. Al aumentar la edad (peso, dimensiones) disminuyeron eritrocitos, hemoglobina, HCM y CHCM, aumentando el VCM. Todos los valores hematológicos fueron más bajos en invierno, excepto VCM. Los caimanes que consumieron una dieta balanceada suministrada en un criadero exhibieron valores más altos que los ejemplares alimentados en un zoológico.

Palabras clave: *Caiman latirostris*, *Caiman yacare*, eritrocitos, hematocrito, hemoglobina, oscilaciones fisiológicas.

Abstract

Barboza, N.N.; Mussart, N.B.; Coppo, J.A.; Fioranelli, S.A.; Koza, G.A.: Erythrogram variations in caymans reared under a ranching system. Rev. vet. 18: 2, 84–91, 2007.

To determine reference values and physiological variations on the erythrogram of northeastern Argentine autochthonous caymans, captive sub-adults clinically healthy *Caiman latirostris* (n=109) and *Caiman yacare* (n=114) reared under a ranching system, were investigated. Values of hematocrit ($21.2\pm 3.5\%$), erythrocytes (0.49 ± 0.09 T/l), MCV (428 ± 36 fl), hemoglobin (6.12 ± 1.08 g/dl), MCH (125 ± 19 pg) and MCHC ($30.1\pm 3.7\%$) were determined by specific reptilian techniques. Dimensions (longitude, wide) from mature and immature erythrocytes did not register significant differences between species. Erythrocyte concentration was higher in *C. yacare* ($p < 0.05$). MCV and MCH indexes were higher in *C. latirostris*. Erythrocytes were more numerous in males; MCV and MCH were higher in females, considering grouped species. Erythrocytes, hemoglobin, MCH and MCHC decreased when age progressed (increases of liveweight and size), in coincidence to MCV increase. Except MCV, all remaining hematological values were lower in winter. Caymans fed on balanced diet in a hatchery registered higher hematological values than those fed at a zoo.

Key words: *Caiman latirostris*, *Caiman yacare*, erythrocytes, hematocrit, hemoglobin, physiological variations.

INTRODUCCIÓN

Los estudios hematológicos en caimanes de vida silvestre o criados en cautiverio están siendo llevados a cabo con fines científicos y productivos, aplicándose a proyectos de conservación, reproducción o aprovechamiento de cuero y carne con reintroducción de ejemplares al medioambiente¹⁹.

En el nordeste argentino, la población de caimanes disminuyó drásticamente hasta la década de 1980, cuando se impusieron severos controles contra la caza furtiva. Hoy en día, estas medidas y la introducción de programas de cría como el sistema *ranching* posibilitaron el aumento de su densidad poblacional, así como su explotación comercial³¹. Dicho sistema consiste en la recolección de huevos a partir de nidos silvestres y ulterior crianza en cautiverio, con restitución de caimanes juveniles al

mismo hábitat, en un número similar a la proporción de ejemplares que habrían sobrevivido bajo condiciones naturales, en resguardo del equilibrio ecológico²⁹.

Caiman latirostris y *Caiman yacare* son especies autóctonas que habitan aguas dulces de nuestro país. La determinación de la edad de estos reptiles es imposible si se desconoce la fecha de su nacimiento⁵. Por ello, se han establecido cuatro categorías etáreas de importancia biológica, acorde a su longitud total: I (0,23-0,40 m: menores de un año), II (0,41-1,30 m: sub-adultos), III (1,31-1,70 m: reproductores adultos machos y hembras) y IV (> 1,70 m: machos adultos)³¹. Los caimanes adultos son carnívoros no discriminativos que pueden consumir tanto animales vivos como carroña; en los criaderos son mantenidos con alimentos balanceados²⁸, aunque sus verdaderos requerimientos nutricionales son aún motivo de discusión⁵.

La temperatura medioambiental es importante en la conducta alimentaria y el proceso digestivo de los reptiles. Mediante el consumo de oxígeno, en *C. latirostris* fue estudiada la respuesta post-prandial para establecer su resistencia al ayuno prolongado²⁶. La mayoría de los cocodrilos deja de alimentarse cuando la temperatura cae por debajo de 25°C. Se considera que la temperatura óptima para la alimentación está situada entre 25 y 35°C¹³. Por ser animales ectotermos, los reptiles exhiben un bajo metabolismo basal, a consecuencia de lo cual la vida media de sus eritrocitos (*turnover*) es mucho más larga (600-880 días) que la de los glóbulos rojos de aves y mamíferos¹.

Los datos del eritrograma son capaces de coadyuvar en el diagnóstico y control evolutivo de numerosas enfermedades de los reptiles, como anemia, desnutrición, deshidratación, inflamaciones, parasitemias, intoxicaciones, neoplasias hematopoyéticas y desórdenes de la hemostasia¹. El eritrograma es el reflejo del grado de oxigenación del cocodrilo; en *C. yacare* se han demostrado estados de hipoperfusión e hipoxia durante el buceo prolongado⁹. Para interpretar dichos datos es dable tener en cuenta que en la mayoría de los vertebrados, el tamaño y la concentración de los glóbulos rojos, así como los valores de hemoglobina, varían considerablemente según la edad, sexo, estadio reproductivo, alimentación, ritmo circadiano, hábitat y clima².

Algunos parámetros de la serie roja de los reptiles aún no están suficientemente estudiados; la estructura de la hemoglobina de los cocodrilos todavía no pudo ser totalmente elucidada³. El hematocrito y las concentraciones de eritrocitos y hemoglobina de los cocodrilos no difieren considerablemente de los de otros reptiles como tortugas y lagartos, aunque los glóbulos rojos revelan características diferenciales propias¹⁶. Un pequeño grado de anisocitosis y poiquilocitosis son normales en estos animales¹. Además, el sexo, la edad y la temperatura ambiental son capaces de provocar modificaciones de la serie roja de los reptiles^{14,17,25}.

La concentración de eritrocitos en sangre periférica es menor en los reptiles que en los mamíferos o las aves. Ello se debe a la relación inversa existente entre el

tamaño y el número de glóbulos rojos¹. No obstante, la similitud entre los eritrocitos de reptiles y aves es notoria, corroborando la hipótesis de un ancestro común³⁰. Los hematíes de los reptiles se producen en la médula ósea o, bajo ciertas condiciones, en el bazo e hígado, culminando muchas veces su maduración en la sangre circulante. Ello permite encontrar eritrocitos inmaduros circulantes (rubricitos, eritrocitos policromáticos o en mitosis), especialmente en cocodrilos jóvenes, aunque estas células también pueden encontrarse en las anemias regenerativas¹⁹.

El conocimiento del eritrograma y sus variaciones fisiológicas es incompleta y controversial en nuestros caimanes autóctonos. Las deficiencias nutricionales, capaces de alterar el cuadro hemático, son frecuentes en *C. latirostris* y *C. yacare* mantenidos bajo el sistema *ranching*⁵. Los datos sobre el eritrograma de caimanes en cautiverio, además de ser útiles para optimizar el diagnóstico y tratamiento de sus enfermedades²⁹, podrían conducir hacia la elucidación de su real requerimiento nutricional.

El objetivo de este estudio fue obtener valores de referencia para los parámetros del eritrograma en ejemplares sub-adultos de *C. latirostris* y *C. yacare*, así como oscilaciones fisiológicas atribuibles a la especie, sexo, edad (peso, dimensiones), alimentación y clima (época del año), como parte de un proyecto mayor que aspira a mejorar su sistema de crianza.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos experimentales. A lo largo de 2 años de estudios, se utilizaron en total 223 ejemplares de *Caiman sp.* clínicamente sanos (109 *C. latirostris* y 114 *C. yacare*), aproximadamente 50% de cada sexo (104 machos y 119 hembras). Se trató de animales "sub-adultos", con edades de 1-5 años, pesos de 2-7 kg y longitudes de 80-130 cm³¹. En su gran mayoría (n = 194), los caimanes estaban alojados en el criadero "El Cachapé", ruta provincial N° 90, a 13 km de La Eduvigis, Chaco (establecimiento privado incorporado al Programa de Refugios de la Fundación Vida Silvestre Argentina), en piletas techadas con cinc, cuyo piso estaba cubierto de agua de napa en un 40%, la cual se renovaba día por medio. Tres veces por semana eran alimentados *ad libitum* con harina de carne suplementada con vitaminas y minerales; esporádicamente recibían vísceras bovinas. En invierno estos reptiles dispusieron de calefacción (estufas a gas y paneles solares). Los restantes (n = 29) eran reptiles del Zoológico de la Ciudad de Corrientes (Dirección Provincial de Flora y Fauna) y permanecieron en predios cercados por alambre tejido, sin techo, cuyo piso estaba cubierto en un 50% por agua corriente circulante. Estos caimanes fueron alimentados con vísceras de pollo, pescado y -ocasionalmente- carne de vacuno, sin suplementos vitamínico-minerales. Para evaluar cambios atribuibles a la edad, los reptiles fueron divididos en 3 estadios de desarrollo, teniendo en cuenta el peso vivo y las dimensiones corporales.

Toma de muestras. Los estudios morfométricos y las extracciones de sangre se efectuaron 4 veces por año, en cada una de las estaciones, en horario matutino (8-9 AM) y bajo ayuno de 12 horas, sin emplear anestésicos ni tranquilizantes. Para minimizar el estrés^{7,12}, tales maniobras fueron realizadas diestra y rápidamente por personal especializado. El peso vivo se obtuvo en una balanza romana colgante y las dimensiones corporales se midieron con cinta métrica metálica. La extracción de sangre se realizó con jeringa y aguja, a partir del seno venoso post-occipital^{1,11}, obteniéndose unos 5 ml por animal. La sangre fue anticoagulada con EDTA^{1,19} y se mantuvo refrigerada a 5°C hasta su procesamiento en el laboratorio, realizado antes de las 3 horas de la extracción.

Determinaciones de laboratorio. El hematocrito se evaluó por centrifugación de tubos capilares a 12.000 rpm. La concentración de glóbulos rojos se obtuvo mediante recuento microscópico en hemocitómetro de Neubauer, empleando métodos y reactivos específicos para reptiles^{1,10,19}. Las dimensiones de los eritrocitos fueron medidas en frotis teñidos con May Grünwald-Giemsa con la ayuda de un ocular micrométrico^{1,18}, en microscopio Zeiss ST-25, obteniéndose fotomicrografías con una cámara Leica MC-80. La determinación de hemoglobina se realizó por la técnica de la cianmetaHb, lecturas a 540 nm, reactivos Wiener Lab, en un espectrofotómetro L.Mannheim 4010 UV-visible, con cubeta semimicro de cuarzo (1 cm de paso de luz) termostata a 37°C. Previamente fueron separados por centrifugación los núcleos libres de los eritrocitos hemolizados, como se recomienda¹. A través de cálculos convencionales se estimaron los índices hematimétricos: volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM). Las determinaciones bioquímicas se efectuaron bajo control de calidad intralaboratorial, utilizando patrones comerciales de comparación.

Análisis estadístico. La normalidad distributiva fue verificada mediante el test de Wilk-Shapiro (WS). Las estadísticas paramétricas incluyeron medidas de tendencia central (media aritmética, \bar{x}) y dispersión (desvío estándar, DE). La probabilidad fiducial fue evaluada mediante intervalos de confianza (IC \pm 95%). El análisis de la variancia (ANOVA) se efectuó por modelo lineal a una vía, previa constatación de la homogeneidad de la variancia mediante test de Bartlett. En los casos en que el ANOVA resultó significativo ($p < 0,05$), se aplicó la prueba de comparación de medias (Tukey). La asociación lineal se estableció por correlación (test de Pearson). Los análisis estadísticos se

efectuaron con el auxilio de un programa informático (*Statistix 1996*). Para todas las inferencias se estipuló un riesgo alfa del 5%, por debajo del cual se rechazó la hipótesis nula de igualdad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se exponen los resultados de la micrometría de los hematíes para el conjunto de ambas especies, dado que el ANOVA no reveló diferencias significativas entre especies, sexos, edades, estación del año y sistemas de alimentación. Tal circunstancia, aunada a los reducidos márgenes de dispersión (DE), confianza (IC \pm 95%) y rango individual (mínimo-máximo), indica una notable estabilidad estructural del eritrocito de caimán ante cambiantes situaciones fisiológicas. Habiéndose estudiado ejemplares sub-adultos, no resultó extraña la presencia de eritrocitos inmaduros, como está descrito en otras especies de cocodrilos^{1,20}.

Las dimensiones de los eritrocitos maduros halladas en el presente ensayo realizado en Chaco son coin-

Tabla 1. Dimensiones de los eritrocitos obtenidos en ambas especies (um).

estadígrafo	eritrocitos maduros		eritrocitos inmaduros	
	largo	ancho	largo	ancho
$\bar{x} \pm DE$	17,30 \pm 1,34	8,74 \pm 1,02	19,58 \pm 1,69	12,57 \pm 1,53
WS	0,9433	0,8915	0,9419	0,9238
IC \pm 95%	17,09 - 17,52	8,58 - 8,90	19,30 - 19,86	12,32 - 12,81
rango	14,35 - 20,50	7,17 - 10,25	16,40 - 22,55	10,25 - 15,37

\bar{x} : media aritmética, DE: desvío estándar, WS: test de normalidad distributiva de Wilk-Shapiro (valor en Tabla W: 0,902 para $\alpha = 0,05$), IC \pm 95%: intervalo de confianza del 95%.

cidentes con las reportadas para las mismas especies en Corrientes, de 17 x 9 um²⁸. Sin embargo, resultaron más bajas que las publicadas en Perú para *Paleosuchus trigonatus*, de 20 x 12 um²⁰ y más altas que las comunicadas en Venezuela para *Caiman crocodilus*, cuya longitud eritrocítica varió entre 12,5 y 19,5 um²². Los hematíes inmaduros fueron más grandes que los maduros, aunque sin alcanzar las dimensiones descritas para *P. trigonatus* (24 x 14 um)²⁰.

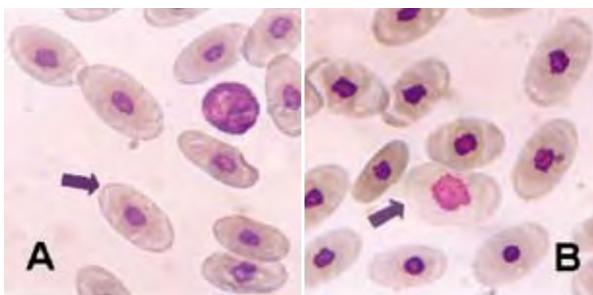


Figura 1. Las flechas indican eritrocitos maduro (A) e inmaduro (B). Nótese las diferencias de tamaño, contorno y forma del núcleo. May Grünwald-Giemsa, 1000x.

Los eritrocitos maduros (Figura 1) revelaron un contorno elíptico regular, citoplasma acidófilo y núcleo central esférico u ovoide, de tinción basófila, características que no se alejan de las descriptas para otros caimanes^{18, 20}, citándose que el núcleo se torna más condensado al aumentar la edad celular¹.

Los glóbulos rojos inmaduros (Figura 1) exhibieron un contorno elíptico menos regular, citoplasma acidófilo y núcleo único central, esférico o escotado, de fuerte tinción basófila. En algunas especies de cocodrilos estas células son redondas, con citoplasma más basofílico¹ y en otras está relatada la presencia de núcleos múltiples²⁰ o con actividad mitótica¹⁸.

En la Tabla 2 se detallan los valores del eritrograma para el conjunto de ambas especies. La distribución aproximadamente normal de los valores (WS) permitió el uso de estadísticas paramétricas. La dispersión de los datos (DE) no excedió los límites recomendados por las estadísticas paramétricas. Los intervalos de confianza (IC) se ajustaron alrededor de las medias aritméticas (\bar{x}), pero los rangos individuales fueron amplios, en coincidencia con resultados obtenidos en otros trabajos²⁹.

En los cocodrilos, la falta de ayuno causa variación de ciertos componentes sanguíneos¹⁷, los cuales también están expuestos a oscilaciones según la hora del día². Las eventuales fluctuaciones debidas al efecto postprandial y al ritmo circadiano quedaron excluidas del diseño porque las muestras se tomaron en ayunas y en horario matutino uniforme. El control de calidad garantizó la exactitud y precisión de los resultados obtenidos en el laboratorio.

El hematocrito obtenido en las especies aquí estudiadas es semejante a los reportados para *Alligator mississippiensis* (24,7±3,6%)²⁴, *Crocodilus niloticus* (25±1%)³² y *Crocodilus acutus* (26%)²⁷. Los rangos del hematocrito registrados en el presente estudio tampoco difieren mayormente de los hallados por otros en *C. niloticus* (13 a 27%)⁶, *C. crocodilus* (20 a 30%)²² y *A. mississippiensis* (20 a 30%)²⁷. Para *Crocodilus po-*

Tabla 2. Valores del eritrograma obtenidos en ambas especies (n = 223).

parámetro	$\bar{x} \pm DE$	WS	IC \pm 95%	rango
hematocrito (%)	21,2 \pm 3,5	0,967	20,5 21,5	14 31
eritrocitos (T/l)	0,49 \pm 0,09	0,981	0,48 0,51	0,26 0,76
VCM (fl)	428 \pm 36	0,982	423 433	354 508
hemoglobina (g/dl)	6,12 \pm 1,08	0,948	5,91 6,28	4,06 -10,65
HCM (pg)	125 \pm 19	0,963	122 128	91 184
CHCM (%)	30,1 \pm 3,7	0,961	28,9 29,9	23 38

\bar{x} : media aritmética, DE: desvío estándar, WS: test de normalidad distributiva de Wilk-Shapiro (valor en Tabla W: 0,947 para $\alpha = 0,05$), IC \pm 95%: intervalo de confianza del 95%.

rosus se comunicaron rangos más amplios (17 a 41%)¹⁷. En *C. niloticus*, otro investigador halló una media más elevada (35%)²⁷.

La concentración de eritrocitos registrada en nuestros caimanes autóctonos es más alta que la hallada en *A. mississippiensis* por otros investigadores (0,38 T/l)¹⁵, pero más baja que la publicada para dicha especie en otros trabajos: 0,52±0,09 T/l²⁴, 0,60-1,30 T/l¹⁷, 0,67 T/l²⁷ y 0,60-1,50 T/l⁸. Los recuentos de células rojas de *C. crocodilus* también fueron más altos, de 0,50-0,64 T/l²². El VCM de *C. latirostris* y *C. yacare* resultó casi idéntico al encontrado en *C. crocodilus*: 426±20 fl²². En *A. mississippiensis* este índice fue más alto, de 475±57 fl²⁴ y 450 fl²⁷. En *C. porosus* el VCM fue más bajo: 240 a 311 fl¹⁷. Se refrenda que los caimanes autóctonos, como el resto de los cocodrilos, poseen comparativamente escasas concentraciones de glóbulos rojos, ajustándose a la premisa biológica que establece que cuanto mayor es el tamaño del eritrocito, menor será su concentración en sangre¹⁹.

La concentración de hemoglobina obtenida en el presente estudio fue ligeramente inferior a la reportada para *A. mississippiensis*: 7,53±1,11 g/dl²⁴ y 7,1-8,2 g/dl²⁷, así como para la encontrada en *C. crocodilus*: 6,45 g/dl²² y *C. niloticus*: 7,4 g/dl⁶. En cambio, fue considerablemente más baja que la publicada para *Caiman sp.*: 8,6 g/dl²⁷, *C. porosus*: 4,7-12,2 g/dl¹⁷ y *C. acutus*: 9 g/dl²⁷ y 11,2 g/dl³². Los índices de HCM registrados en este ensayo fueron coincidentes con los hallados en *A. mississippiensis*: 123 pg²⁷, aunque más bajos que los obtenidos en la misma especie por otro investiga-

Tabla 3. Valores del eritrograma obtenidos según especie.

parámetro	<i>C. latirostris</i> (n = 109)		<i>C. yacare</i> (n = 114)	
	$\bar{x} \pm DE$	IC \pm 95%	$\bar{x} \pm DE$	IC \pm 95%
hematocrito (%)	20,8 \pm 3,6	20,1 21,5	21,6 \pm 3,4	20,6 21,9
eritrocitos (T/l)	0,47 \pm 0,08 ^a	0,46 0,50	0,51 \pm 0,09 ^b	0,49 0,53
VCM (fl)	439 \pm 37 ^a	427 442	421 \pm 34 ^b	414 427
hemoglobina (g/dl)	6,14 \pm 1,10	5,88 6,39	6,07 \pm 0,98	5,76 6,34
HCM (pg)	130 \pm 20 ^a	125 133	119 \pm 18 ^b	116 124
CHCM (%)	29,8 \pm 3,7	29,1 30,6	28,7 \pm 3,6	28,2 29,7

\bar{x} : media aritmética, DE: desvío estándar, IC \pm 95%: intervalo de confianza. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas (test de Tukey, $p < 0,05$).

dor: 147 ± 29 pg²⁴ y más altos que los alcanzados por *C. porosus*: $72-92$ pg¹⁷ y *C. crocodilus*: 113 ± 8 pg²². Por su parte, nuestra tasa de CHCM fue similar a la reportada en *A. mississippiensis*: $31,6 \pm 3,4\%$ ²⁴ y *C. porosus*: $26,1-31,9\%$ ¹⁷, aunque menor a la de *C. crocodilus*: $26,8 \pm 1,9\%$ ²².

En la Tabla 3 se muestran los valores del eritrograma discriminados por especie, revelando que el número de eritrocitos fue significativamente más alto en *C. yacare* y que los índices VCM y HCM estuvieron significativamente más elevados en *C. latirostris*. Comparando el hematocrito obtenido en el presente estudio en ejemplares sub-adultos de *C. latirostris* con el registrado en especímenes juveniles de la misma especie en cautiverio, surgen valores coincidentes: $22 \pm 3\%$ ²⁸, $24,8 \pm 1,9\%$ ²⁹ y $21,9 \pm 0,3\%$ ⁵, aunque otros aparecen largamente distanciados: $11-13\%$ ²³ y 40% ¹⁰. Para el hematocrito de *C. yacare* también se pusieron de relieve semejanzas: $22,1 \pm 1,2\%$ ²⁹ y discrepancias: $18,4 \pm 0,3\%$ ⁵ y $26 \pm 4\%$ ²⁸.

Las concentraciones de eritrocitos de los caimanes del *ranching* chaqueño fueron semejantes a las halladas en ejemplares de un criadero correntino, tanto para *C. yacare*: $0,54 \pm 0,16$ T/l como para *C. latirostris*: $0,51 \pm 0,14$ T/l²⁸. Para esta última especie otros autores reportan un nivel considerablemente más bajo: $0,38$ T/l¹⁰. Los índices para el VCM resultaron similares en *C. latirostris*: 429 ± 115 fl pero más elevados en *C. yacare*: 478 ± 124 fl²⁸. Todos los restantes valores hallados en la bibliografía fueron considerablemente más altos que los resultantes de este estudio, tanto para *C. yacare* (hemoglobina: $10,4 \pm 2,5$ g/dl, HCM: 191 ± 69 pg y CHCM: $40 \pm 6\%$) como para *C. latirostris* (hemoglobina: $9,9 \pm 3,0$ g/dl, HCM: 193 ± 65 pg y CHCM: $45 \pm 15\%$)²⁸. Para esta última especie se mencionan valores de hemoglobina tan altos como $12-14$ g/dl¹⁰.

Tal disimilitud seguramente obedece a factores inherentes al sexo, edad y alimentación de los reptiles, así como al uso de diferentes técnicas de extracción y procesamiento de la sangre. Varios investigadores precedentemente mencionados obtuvieron sangre por punción intracardiaca^{8,10,23}, que en ciertos casos posee valores distintos a los de la sangre periférica¹¹. Algunos efectuaron punción de la vena caudal²⁸. En ciertos ensayos el número muestral fue muy bajo, no se tuvo en cuenta el efecto postprandial ni el ritmo circadiano y se deduce que transcurrió mucho tiempo entre la ex-

tracción y el procesamiento de la sangre. Otros usaron heparina^{5,29}, un anticoagulante que además de generar un tinte azulado en los frotis, produce el agrupamiento de las células sanguíneas¹. Más aún, en algunos estudios no se mencionan los métodos de laboratorio utilizados, no se dividen los animales según sexo, edad, estación del año ni sistema de alimentación, llegando a publicarse valores numéricos sin sus correspondientes unidades.

Por otra parte, debe tenerse en cuenta que el estrés generado por inapropiadas maniobras de contención del cocodrilo, provoca aumentos de hematocrito y hemoglobina que retornan a valores basales recién 8 horas más tarde⁷. Adicionalmente, los valores hematológicos de los caimanes en cautiverio no representan los valores reales que poseen los animales en vida libre. En *A. mississippiensis* se comprobó que pocas horas después de la captura, el estrés provocó aumentos de corticosterona y descensos de testosterona, esta última activadora de la eritropoyesis¹². Ello explicaría -en parte- la causa por la cual el hematocrito resultó más bajo en especímenes de *C. yacare* en cautiverio ($18,4 \pm 0,3\%$) que en ejemplares de vida libre ($29,9 \pm 8,3\%$), pese a la regularidad de la alimentación y al control de la temperatura ambiental⁵.

En la Tabla 4 se consignan las variaciones fisiológicas atribuibles al sexo y edad (peso, longitud) de los caimanes. Se desprende que los machos registraron valores significativamente más altos de eritrocitos, pero más bajos índices de VCM y HCM. En otros estudios efectuados sobre *C. latirostris* y *C. yacare* no se hallaron diferencias entre sexos²⁸. Sin embargo, se asevera que el sexo es un factor de variabilidad para los parámetros hematológicos de los cocodrilos²⁹; las concentraciones de eritrocitos son generalmente más bajas en hembras¹, en coincidencia con nuestros resultados. El tamaño del glóbulo rojo también registraría cambios según el sexo; el VCM de ejemplares juveniles de *Crocodylus palustris* fue significativamente mayor en machos que en hembras, aunque tal diferencia no fue registrada en el estadio sub-adulto²⁵. En *C. crocodilus* de 2-5 años de edad, los machos registraron mayores niveles sanguíneos de hemoglobina que las hembras ($6,62$ versus $6,30$ g/dl)²².

En los caimanes aquí estudiados, el avance del crecimiento (incrementos de peso y dimensiones) se tradujo en diferencias significativas de los parámetros del

Tabla 4. Variaciones del eritrograma según sexo, peso y longitud en ambas especies (\bar{x}).

parámetro	sexo		peso (kg)			longitud (cm)		
	macho	hembra	< 3,5	3,5-5,0	> 5	< 100	100-110	> 110
hematocrito (%)	21,4	20,9	21,5	21,1	20,8	21,5	20,6	21,1
eritrocitos (T/l)	0,52 ^a	0,48 ^b	0,51	0,49	0,48	0,52 ^a	0,49 ^{ab}	0,46 ^b
VCM (fl)	413 ^a	431 ^b	425	429	431	418 ^a	425 ^{ab}	446 ^b
hemoglob.(g/dl)	6,18	5,96	6,39 ^a	5,94 ^{ab}	5,83 ^b	6,34	6,14	6,09
HCM (pg)	119 ^a	127 ^b	131 ^a	124 ^b	120 ^b	128	124	122
CHCM (%)	29,5	30,8	31,1 ^a	28,5 ^b	28,0 ^b	30,4	29,0	28,8

\bar{x} : media aritmética. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas (test de Tukey, $p < 0,05$).

Tabla 5. Variaciones según clima y alimentación en ambas especies (\bar{x}).

parámetro	estación del año				alimentación	
	primavera	verano	otoño	invierno	criadero	zoo
hematocrito (%)	21,3 ^a	22,5 ^b	20,4 ^{ab}	18,3 ^c	23,4 ^a	20,6 ^b
eritrocitos (T/l)	0,51 ^a	0,52 ^a	0,45 ^b	0,43 ^b	0,58 ^a	0,49 ^b
VCM (fl)	419 ^a	422 ^a	449 ^b	431 ^{ab}	410	419
hemoglobina (g/dl)	6,48 ^a	6,54 ^a	5,83 ^b	5,37 ^c	6,35 ^a	6,01 ^b
HCM (pg)	135 ^a	129 ^a	118 ^b	115 ^b	129 ^a	115 ^b
CHCM (%)	29,1 ^a	31,8 ^b	28,3 ^a	27,6 ^a	30,3	29,6

\bar{x} : media aritmética. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0,05$).

eritrograma. Al aumentar la longitud total de los animales disminuyó significativamente la concentración de eritrocitos y aumentó significativamente el VCM. Al aumentar el peso se redujeron significativamente los niveles de hemoglobina y los índices HCM y CHCM. En coincidencia, la hemoglobina de *C. porosus* fue más alta en ejemplares de un año de edad (8,45 g/dl) que en animales de 2-4 años (6,95 g/dl)¹⁷, aunque también se redujeron los valores de hematocrito (de 29 a 21%), cuyas variaciones no fueron significativas en este estudio. Sin embargo, los eritrocitos de *C. palustris* aumentarían al progresar la edad, siendo más elevados en adultos que en juveniles²⁵. En otro ensayo efectuado sobre *C. latirostris* y *C. yacare* no se hallaron diferencias hematológicas entre distintas edades²⁸.

Avalando que la agrupación por “edades” (peso, longitud) representó fielmente el crecimiento de los caimanes, la prueba de Pearson reveló alto grado de asociación lineal ($p < 0,05$) entre el peso vivo y variables como longitud total ($r = 0,90$), longitud hocico-cola (0,83), longitud de cabeza (0,79), ancho de cabeza (0,86) y perímetro torácico (0,88). Considerando los tres grupos etáreos conformados, el aumento de peso vivo correlacionó con el incremento de VCM ($r = 0,98$) y con las disminuciones de hematocrito (0,94), eritrocitos (0,92), hemoglobina (0,90), HCM (0,86) y CHCM (0,88). El aumento de longitud total también correlacionó significativamente con dichas variables.

En la Tabla 5 se presentan los cambios según estación del año y tipo de alimentación. Los valores significativamente más bajos de hematocrito, eritrocitos, hemoglobina, HCM y CHCM se registraron en invierno y, con excepción de VCM y HCM, los restantes valores fueron significativamente más altos en verano. Estos datos reafirman que los niveles hematológicos de los reptiles fluctúan según el clima²⁹, pese a que en algunos estudios no se hallaron variaciones entre las distintas estaciones del año²⁸. Coincidimos en que la más baja concentración de eritrocitos ocurre durante el estado de hibernación de los cocodrilos¹, en discrepancia con otros autores⁴.

Las diferencias de hematocrito entre distintas estaciones del año quizás se relacionen con el cambio de viscosidad de la sangre producido por la temperatura ambiental; en varios reptiles la reducción de la viscosidad causada por las temperaturas elevadas correlaciona significativamente con el valor del hematocrito¹⁴. Tam-

bién podría relacionarse a cambios estacionales de hormonas promotoras de la eritropoyesis; en *A. mississippiensis* los niveles de testosterona son altos en primavera-verano y se deprimen durante el invierno²¹. Además, la depleción de las reservas tisulares que ocurre durante el invierno, capaz de causar desnutrición en los caimanes²⁴, podría afectar los parámetros de la serie roja, los cuales son eficaces indicadores de estado nutricional².

El alimento suministrado en el zoológico se reflejó en valores significativamente más bajos de hematocrito, eritrocitos, hemoglobina, HCM y CHCM. En cambio, aumentó ligeramente el VCM, cambios que en los mamíferos serían indicativos de deficiencia de vitamina B₁₂ y/o folato².

La cantidad y calidad de alimentos brindados en el criadero, que incluyeron suplementos de vitaminas y minerales, aunados al sistema de calefacción invernal, seguramente son los responsables de los más altos valores del eritrograma. Los resultados avalan el aserto que los valores hematológicos de los reptiles varían según su alimentación²⁹ y que la concentración de eritrocitos es un indicador del estado nutricional del cocodrilo¹. Ante un inapropiado cambio de alimentación, los promedios del hematocrito de *C. yacare* disminuyeron a valores tan bajos como 17%⁵.

Los valores sanguíneos son útiles para evaluar el estado fisiológico de los reptiles y detectar precozmente la aparición de enfermedades²⁹. Mejorar la alimentación de los caimanes en cautiverio es la más alta prioridad del sistema de cría en cautiverio⁵; el monitoreo de los valores del eritrograma pueden coadyuvar al logro de tal objetivo.

En conclusión, se establecen valores eritrocitarios de referencia en ejemplares sub-adultos de *C. latirostris* y *C. yacare* en cautiverio, así como significativas variaciones fisiológicas atribuibles a especie, sexo, edad (peso vivo, dimensiones), temperatura medioambiental (estación del año) y sistema de alimentación. Los datos obtenidos pueden ser aplicados para mejorar la crianza de caimanes en el nordeste argentino.

Agradecimientos. Al personal técnico del criadero El Cachapé y del Zoológico de Corrientes por su valiosa colaboración en la toma de muestras. Al CIDET-UNAM (Proyecto 16Q/267) y Wiener Lab (Rosario, Argentina) por haber colaborado económicamente para la realización del presente estudio.

REFERENCIAS

1. **Campbell TW.** 1996. Clinical Pathology. In: *Reptile Medicine and Surgery* (Mader DR Ed.), Saunders, Philadelphia, p. 248-257.
2. **Coppo JA.** 2001. *Fisiología Comparada del Medio Interno*, Ed Dunken, Buenos Aires, p. 212-216.
3. **Deepthi S, Johnson A, Sathish R, Pattabhi V.** 2000. Purification, crystallisation and preliminary X-ray study of haemoglobin from *Crocodylus palustris* and *Crocodylus porosus*. *Biochim Biophys Acta* 1480: 384-387.
4. **Duguy R.** 1970. Numbers of blood cells and their variation. In: *Biology of the Reptilia* (Gans C Ed.), Academic Press, New York, p. 93-104.
5. **Ferreira H, Uhart M.** 2001. Evaluación y evolución del estado sanitario de *Caiman latirostris* y *Caiman yacare* en el Refugio El Cachapé. *Boletín Técnico de la Fundación Vida Silvestre Argentina* 55, Anexo III: 1-15.
6. **Foggini CM.** 1987. Diseases and disease control on crocodile farms in Zimbabwe. In: *Wildlife Management: Crocodiles and Alligators* (Webb GJ, Manolis SC, Whitehead PJ Ed.), Surrey Beatty, Chipping Norton, p. 351-362.
7. **Franklin CE, Davis BM, Peucker SK, Stephenson H, Mayer R, Whittier J, Lever J, Grigg GC.** 2003. Comparison of stress induced by manual restraint and immobilisation in the estuarine crocodile, *Crocodylus porosus*. *J Exp Zool* 298: 86-92.
8. **Frye FL.** 1994. *Reptile Clinician's Handbook: a Compact Clinical and Surgical Reference*, Krieger, Florida, p. 214.
9. **Furtado-Filho OV, Polcheira C, Machado DP, Mourão G, Hermes-Lima M.** 2007. Selected oxidative stress markers in a South American crocodylian species. *Comp Biochem Physiol* 146: 241-254.
10. **García PB, Matushima ER, Ramos MC, Dias JL, Verdade LM.** 1992. Variações sazonais do padrão hematológico de jacarés-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) em cativeiro. *Anais do 3º Workshop sobre Conservação e Manejo do Jacaré-de-papo-amarelo*, São Paulo (Brasil), Trabalho Nº 3, p. 51-60.
11. **Jacobson E.** 1984. Immobilization, blood sampling, necropsy techniques and diseases of crocodylians: a review. *J Zoo Anim Med* 15: 38-45.
12. **Lance VA, Elsey RM, Butterstein G, Trosclair PL.** 2004. Rapid suppression of testosterone secretion after capture in male American alligators (*Alligator mississippiensis*). *Gen Comp Endocrinol* 135: 217-222.
13. **Lane TJ.** 1996. Crocodylians. In: *Reptile Medicine and Surgery* (Mader DR Ed.), Saunders, Philadelphia, p. 78-98.
14. **Langille BL, Crisp B.** 1980. Temperature dependence of blood viscosity in frogs and turtles: effect on heat exchange with environment. *Am J Physiol* 239: R248-253.
15. **Mateo MR, Roberts ED, Enright FM.** 1984. Morphologic, cytochemical, and functional studies of peripheral blood cells of young healthy American alligators (*Alligator mississippiensis*). *Am J Vet Res* 45: 1046-1053.
16. **Mauro NA, Isaacks RE.** 1997. Examination of reptilian erythrocytes as models of the progenitor of mammalian red blood cells. *Comp Biochem Physiol* 116: 323-327.
17. **Millan JM, Janmaat A, Richardson KC, Chambers LK, Fomiatti KR.** 1997. Reference ranges for biochemical and haematological values in farmed saltwater crocodile (*Crocodylus porosus*) yearlings. *Aust Vet J* 75: 814-817.
18. **Moura WL, Matushima ER, Oliveira LW, Egami MI.** 1999. Morphological and cytochemical observations of blood cells of *Caiman crocodylus yacare* (Daudin, 1802) (Reptilia, Crocodylia). *Braz J Vet Res Anim Sci* 36: 45-50.
19. **Oliveira Monteiro A.** 2004. *Patologia Clínica de Répteis*. On line: www.abma.com.br/2004/notes/216.pdf.
20. **Rojas MG.** 2005. Caracterización morfológica de células sanguíneas del caiman de frente lisa (*Paleosuchus trigonatus*, Schneider 1801) mantenidos en cautiverio en Perú. *Proceedings de la Reunión Regional de América Latina y el Caribe del Grupo de Especialistas en Cocodrilos IUCN*, Santa Fe (Argentina), p. 214-220.
21. **Rooney AA, Crain DA, Woodward AR, Guillette LJ.** 2004. Seasonal variation in plasma sex steroid concentrations in juvenile American alligators. *Gen Comp Endocrinol* 135: 25-34.
22. **Rossini VM.** 2004. Determinación de los parámetros hematológicos de la baba (*Caiman crocodylus*) en hábitat silvestre. *Anales del XIX Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias*, Buenos Aires, p. 78.
23. **Santos A, Andreotti C, Bueno V.** 1985. Valores hematológicos de *Caiman latirostris* e de *Caiman crocodylus jacare* (Reptilia: Alligatoridae) criados em cautiverio. *Anales del Primer Congreso Latinoamericano de Medicina Veterinaria de Animales Silvestres*. On line: www.zvert.fcien.edu.uy/bib_reptiles.html.
24. **Schoeb TR, Heaton-Jones TG, Clemmons RM, Carbonneau DA, Woodward AR, Shelton D, Poppenga RH.** 2002. Clinical and necropsy findings associated with mortality among american alligators of Lake Griffin, Florida. *J Wildl Dis* 38: 320-337.
25. **Stacy BA, Whitaker N.** 2000. Hematology and blood biochemistry of captive mugger crocodiles (*Crocodylus palustris*). *J Zoo Wildl Med* 31: 339-347.
26. **Starck JM, Cruz-Neto AP, Abe AS.** 2007. Physiological and morphological responses to feeding in broad-nosed caiman (*Caiman latirostris*). *J Exp Biol* 210: 2033-2045.
27. **Stein G.** 1996. Hematologic and blood chemistry values in reptiles. In: *Reptile Medicine and Surgery* (Mader DR Ed.), Saunders, Philadelphia, p. 473-483.
28. **Troiano JC, Silva MC, Esarte M, Márquez AG, Mira G.** 1996. Valores hematológicos de las especies argentinas del género *Caiman* (Crocodylia-Alligatoridae). *Facena* 12: 111-118.
29. **Uhart M, Prado W, Beldoménico P, Rossetti C, Ferreira Armas MC, Martínez A, Bardón JC, Avilés G, Karesh W.** 2001. Estudios sanitarios comparativos de jacarés (*Caiman latirostris* y *Caiman yacare*) silvestres y cautivos. *Boletín Técnico de la Fundación Vida Silvestre Argentina* 55: 39-50.
30. **Villar LJ, Puigbó P, Riera CM.** 2003. Analysis of highly phosphorylated inositols in avian and crocodylian erythrocytes. *Comp Biochem Physiol* 135: 169-175.
31. **Waller T, Micucci PA.** 1993. Relevamiento de la distribución, hábitat y abundancia de los crocodilos de la Provin-

Barboza N.N. et al.: Eritrograma en caimanes. *Rev. vet.* 18: 2, 84–91, 2007

cia de Corrientes, Argentina. *Memorias Ira. Reunión Regional Grupo de Especialistas en Cocodrilos*, Santa Marta (Colombia), p. 341-385.

32. **Watson PA.** 1990. Effects of blasting on Nile crocodiles, *Crocodylus niloticus*. *Proceedings of the 10th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group IUCN*, Gainesville, Florida, p. 240-252.