

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO
USFQ**

Colegio de Ciencias de la Salud

Revisión Literaria de Hematología de Quelonios del Ecuador

María Emilia Tamayo Bolaños

Medicina Veterinaria

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Médica Veterinaria

Quito, 22 de mayo de 2023

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO
USFQ**

Colegio de Ciencias de la Salud

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

Revisión Literaria de Hematología en Quelonios del Ecuador

María Emilia Tamayo Bolaños

Nombre del profesor, Título académico Rommel Lenin Vinueza DMVZ, M. Sc

Quito, 22 de mayo de 2023

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: María Emilia Tamayo Bolaños

Código: 00205812

Cédula de identidad: 1723255202

Lugar y fecha: Quito, 22 de mayo de 2023

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

La hematología desempeña un papel fundamental en el diagnóstico, monitoreo y tratamiento de enfermedades en animales. Asimismo, proporciona información valiosa sobre la salud de los animales, su función orgánica y respuesta inmunológica. Los análisis de hematología son una herramienta invaluable para los médicos veterinarios, ya que les permite tomar decisiones informadas y brindar la mejor atención médica posible. En esta revisión, se ha fusionado la información de sesenta trabajos de investigación con el propósito de resumir los puntos más relevantes sobre hematología de quelonios, desde la toma de la muestra hasta las funciones que cumplen cada una de las células sanguíneas en el cuerpo. Además, se recopilan parámetros hematológicos para especies de tortugas terrestres y acuáticas que se encuentran en el Ecuador. Por último, se discute el campo limitado de investigación en hematología de quelonios dentro del país y se brindan recomendaciones para trabajos futuros.

Palabras clave: tortugas, hematología, diagnóstico, morfología, rangos hematológicos

ABSTRACT

Hematology plays a fundamental role in the diagnosis, monitoring, and treatment of diseases in animals. It also provides valuable information on the health of animals, their organic function and immune response. Hematology tests are an invaluable tool for veterinarians, allowing them to make informed decisions and provide the best medical care possible. In this review, information from sixty research papers has been merged with the purpose of summarizing the most relevant points on hematology of chelonians, from sample collection to the functions that each of the blood cells fulfill in the body. In addition, hematological parameters are collected for species of terrestrial and aquatic turtles found in Ecuador. Finally, the limited field of research in chelonian hematology within the country is also discussed and recommendations for future work are provided.

Keywords: turtles, hematology, diagnosis, morphology, hematological ranges

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|----|
| Introducción..... | 10 |
| Hematología General de Quelonios..... | 12 |
| Recolección de muestra, almacenamiento y procesamiento..... | 12 |
| Morfología de células sanguíneas..... | 14 |
| Funciones de células sanguíneas..... | 17 |
| Parámetros hematológicos para especies de tortugas del Ecuador..... | 19 |
| Discusión..... | 23 |
| Conclusión..... | 24 |
| Recomendaciones..... | 25 |
| Referencias..... | 26 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla #1 Rangos de referencia para hematocrito, hemoglobina, eritrocitos y leucocitos para 31 especies de tortugas del Ecuador..... | 19 |
|---|----|

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura #1 Número de tortugas terrestres y la cantidad de parámetros hematológicos completos..... | 20 |
| Figura #2 Número de tortugas acuáticas y la cantidad de parámetros hematológicos completos..... | 21 |
| Figura #3 Valores de hematocrito, hemoglobina, eritrocitos y leucocitos por grupo de tortuga..... | 22 |

INTRODUCCIÓN

Los rangos de referencia y características hematológicas normales se consideran importantes para evaluar y monitorear el estado de salud de los quelonios. De hecho, un análisis hematológico es una herramienta exitosa para el diagnóstico de enfermedades, evaluación del estado de salud y permite establecer un pronóstico después de un tratamiento. Con el fin de evaluar al paciente por medio de un examen hematológico, los médicos veterinarios dependen de valores de referencia confiables (Zhang et al., 2011).

En efecto, durante los últimos años se han establecido rangos de referencia de varias especies de quelonios que se encuentran tanto en libertad como en cautiverio (Dilrukchi et al., 2019; Cabrera et al, 2011; Perpiñán et al., 2008). De igual manera, es importante mencionar que dichos parámetros pueden ser diferentes entre individuos por varios factores como la estacionalidad, el estado fisiológico, el estado reproductivo y los sitios geográficos en donde habitan o se desenvuelven (Zhang et al., 2011).

Las tortugas tienen una anatomía y fisiología respiratoria bastante distinta al resto de animales. Como datos generales, los pulmones de los quelonios son órganos pares en forma de sacos ubicados en el espacio celómico dorsal. Dependiendo de la especie, los pulmones se pueden subdividir en 3 a 11 subcámaras. Por otro lado, las tortugas no poseen un verdadero diafragma, de modo que su cavidad celómica craneal se encuentra separada de su cavidad celómica caudal por un pseudodiafragma (Davari et al., 2020). Los procesos de inspiración y exhalación son activos y dependen de dos músculos principales.

El primero, el músculo oblicuo del abdomen y el segundo, el transversal del abdomen. La contracción del músculo oblicuo del abdomen expande la cavidad celómica, lo que reduce la presión intrapulmonar y, posteriormente, sucede la inhalación. En cambio, el músculo transversal del abdomen al contraerse aumenta la presión intrapulmonar dando como resultado la exhalación (Girling et al., 2019).

Por otro lado, los músculos esqueléticos responsables del movimiento de las extremidades también forman parte de la actividad respiratoria de estos animales debido a que se encuentran dentro de la cavidad celómica. En las tortugas terrestres la ventilación no se ve afectada por la deambulaci3n. Sin embargo, en tortugas acuáticas es el escenario opuesto, incluso estas pueden llegar a detener su respiraci3n por todo el tiempo que se encuentran en movimiento sobre la tierra (Girling et al., 2019).

Se ha clasificado las formas respiratorias en quelonios dependiendo de que tan profundas y repetitivas son las mismas. Por ejemplo, en los quelonios terrestres es más com3n que presenten movimientos respiratorios 3nicos separados de varios períodos de apnea cortos. En cambio, los quelonios acuáticos presentan varias ventilaciones con períodos de apnea largos. Adem3s, el intercambio gaseoso en tortugas terrestres sucede a nivel pulmonar mientras que en acuáticas puede ser tambi3n a nivel cloacal o en la piel (Tracchi, 2018). Por esta raz3n, existe la posibilidad de encontrar diferencias en las características y los valores hematol3gicos entre tortugas terrestres y acuáticas. Sobre todo, cuando se trata de hematocrito, concentraciones de hemoglobina y oxihemoglobina.

El Ecuador es uno de los pa3ses más biodiversos. Seg3n Cisneros-Heredia (2006), se pueden encontrar 31 especies de tortugas tanto terrestres como acuáticas distribuidas en el territorio ecuatoriano continental e insular. Gracias a su gran presencia es importante recopilar informaci3n actualizada y concisa sobre hematología de quelonios para aportar al conocimiento del gremio veterinario que trata su día a día con estos animales.

Los médicos veterinarios o investigadores, sobre todo aquellos que habiten en el Ecuador, que se dediquen a medicina de quelonios y se encuentren en fundaciones, reservas o zool3gicos tendr3n una guía permanente en la cual podr3n basarse sin importar la situaci3n a la que se presenten. La compresi3n de dichos temas asegura el buen

manejo, diagnóstico, rehabilitación y liberación de los pacientes que a su vez contribuye a la conservación de especies.

El objetivo de esta revisión es recolectar y estructurar información acerca de hematología de quelonios y comparar las diferencias hematológicas entre especies de tortugas terrestres y acuáticas del Ecuador. Para esto se identificaron los valores hematológicos más actualizados de tortugas que se encuentren en el país y que han sido publicados en artículos científicos. También, se sistematizó la información recopilada con ayuda de tablas o figuras y, por último, se comparó la información recolectada.

HEMATOLOGÍA GENERAL DE QUELONIOS

Recolección de muestra, almacenamiento y procesamiento

Los quelonios pueden resultar un desafío para la recolección de sangre. Los sitios de recolección de sangre en los quelonios son las venas yugulares, braquiales, de la cola ventral o dorsal y femorales, así como el seno occipital y el corazón, siendo estas últimas las vías menos comunes en la clínica diaria debido a la complejidad y grado de invasión de la técnica (Bryant et al., 2015; Martínez-Silvestre et al., 2002; Rodríguez-Almonacid et al., 2022). Los suministros necesarios dependen del tamaño del animal. Antes de la extracción de sangre, se debe preparar tubos heparinizados, hisopos o algodón con alcohol, guantes de manejo, agujas de calibre 22 a 27 y jeringas de 0,5 a 3 ml (Ballard et al., 2016).

Dentro del manejo clínico de tortugas, el sitio de venopunción más común es la vena yugular debido a su fácil acceso. La vena se encuentra dorsal en el cuello y relativamente superficial. Cabe destacar que, algunas tortugas pueden necesitar sedación para la venopunción yugular porque para esta técnica se necesita exteriorizar y mantener extendida la cabeza del animal, y no en todos los casos esto es posible.

Primero, se localiza la vena, puede ser de ayuda aplicar presión digital en la base del cuello y posteriormente, se inserta la aguja en un ángulo de 30°. En este momento, se empieza a tirar del embolo generando presión negativa. De esta manera, apenas la aguja se introduzca en la vena, la jeringa se llenará de sangre (Ballard et al., 2016; Perpiñán et al., 2017).

Las muestras sanguíneas deben ser almacenadas en tubos de tapa verde, es decir los que contienen heparina de litio como anticoagulante. Se ha reportado que las estructuras sanguíneas de quelonios se conservan mucho mejor en tubos que contienen heparina de litio, a diferencia del ácido etilendiaminotetraacético o EDTA que comúnmente se utiliza para muestras sanguíneas de mamíferos (Klein et al., 2021; Perpiñán et al., 2017; Rodríguez-Almonacid et al., 2022).

Las muestras deben llegar al laboratorio para su debido procesamiento lo más pronto posible, ya que al cabo de algunas horas la morfología celular podría presentar cambios significativos. En caso de necesitar transportar las muestras se debe almacenarlas en un contenedor con hielo para conservarlas mejor. De la misma manera, si es que el procesamiento no ocurre inmediatamente se puede almacenar los tubos en el refrigerador. Con estas recomendaciones se consigue minimizar los posibles errores analíticos (Villiers et al., 2015).

Una vez en el laboratorio, se utilizan distintos métodos hematológicos para una evaluación completa y eficiente de la sangre. En términos generales, la hematología se usa para evaluar el número y la morfología de las células sanguíneas. Principalmente, se puede realizar el hematocrito, conteo de leucocitos totales y conteo diferencial de leucocitos (Nardini et al., 2013).

Para analizar muestras de sangre de tortuga, el conteo de células automatizado estándar que se usa en mamíferos no es confiable porque todas sus células sanguíneas

están nucleadas. En la maquinaria hematológica basada en impedancia, fotoespectrometría o citometría de flujo, los núcleos de los eritrocitos interfieren con los de los glóbulos blancos y las soluciones que provocan la lisis de eritrocitos no los eliminan adecuadamente. Por lo tanto, el conteo cuantitativo de células sanguíneas se realiza manualmente con solución de Natt & Herrick y cámara de Neubauer (Innis et al., 2020; Martínez-Silvestre et al., 2011; Nardini et al., 2013; Vap et al., 2012). Para una examinación completa, el hemograma siempre debe ir acompañado de la evaluación morfológica con un frotis sanguíneo.

Morfología de células sanguíneas

Las células sanguíneas en la sangre periférica de las tortugas están conformadas por eritrocitos, leucocitos y trombocitos. A su vez, los leucocitos se pueden subcategorizar como granulocitos, que incluyen heterófilos, eosinófilos y basófilos, y agranulocitos, que incluyen linfocitos y monocitos (Perpiñán et al., 2017; Zhang et al., 2011). Los leucocitos granulocitos se diferencian entre heterófilos, eosinófilos y basófilos por la coloración de sus gránulos. Tanto los heterófilos como los eosinófilos presentan granulación acidófila, mientras que los basófilos muestran una granulación basófila (Panawala, 2017).

Los *eritrocitos* de los quelonios son células elipsoidales nucleadas con extremos romos que pueden medir 20 μm de largo y 10 μm de ancho. Sus núcleos pueden ser redondos u ovalados, siempre se encuentran en posición central y contienen cromatina densa de coloración morada oscura (Ballard et al., 2016; Perpiñán et al., 2017). El citoplasma es de color rosa anaranjado uniforme o rosa pálido cuando se utiliza una tinción del tipo Romanosky como es la tinción de Wright o Diff Quick (Perpiñán, 2017).

Los *heterófilos* son células leucocitarias grandes y redondas, que varían de 10 μm a 23,8 μm de diámetro (Perpiñán et al., 2017; Zhang et al., 2011). El núcleo no lobulado suele ser redondo u ovalado y está situado en la periferia del citoplasma. El citoplasma

muestra una apariencia incolora, en algunos casos se logra apreciar una eosinofilia débil, y contiene gránulos citoplásmicos eosinofílicos que suelen tener forma de huso o bastón (Zhang et al., 2011).

Ocasionalmente, se pueden encontrar heterófilos degranulados en la sangre de animales normales (Harr et al., 2001). El núcleo de los heterófilos maduros normalmente se posiciona en la periferia de la célula y exhibe una forma redonda a ovalada con cromatina nuclear densamente agrupada (Perpiñán et al., 2017). Cuando hay cambios tóxicos, el citoplasma aparece de color azul y contiene gránulos y vacuolas anormales de color púrpura (Stacy et al., 2022).

Los *eosinófilos* son células leucocitarias redondas de tamaño variable en los quelonios. Su tamaño puede variar entre 11-17 μm . Aunque se ha reportado, las tortugas marinas tienen células más grandes que pueden alcanzar los 25 μm (Perpiñán et al., 2017; Zhang et al., 2011). Estas células presentan un citoplasma de color azul claro con un núcleo centrado o ligeramente excéntrico, de forma redonda u ovalada que se acompaña de una gran cantidad de gránulos citoplasmáticos eosinofílicos esféricos. En ocasiones, el núcleo de estas células puede encontrarse bilobulado (Stacy et al., 2011).

Los *basófilos* son células leucocitarias redondas pequeñas que miden de 8 a 15 μm . Normalmente, son estructuras más pequeñas que los heterófilos y eosinófilos dentro del mismo frotis sanguíneo (Zhang et al., 2011). Este tipo de leucocito contiene un número variable de gránulos citoplasmáticos basófilos redondos. La coloración de sus gránulos puede variar entre un color azul oscuro a púrpura o morado (Perpiñán et al., 2017). Frecuentemente, el núcleo de los basófilos se encontrará oculto por sus gránulos por lo que su observación es difícil. Sin embargo, cuando se logra visualizarlo no presenta lobulación y se encuentra levemente hacia los extremos de la célula (Zhang et al., 2011).

Los *linfocitos* son células leucocitarias que generalmente varían su tamaño desde 5 a 10 μm , pero pueden llegar a medir 15 μm o más. Se puede describir estas células como estructuras redondas que contienen un núcleo central en un escaso citoplasma. Es decir, su relación núcleo-citoplasma es grande (Perpiñán et al., 2017). Su cromatina nuclear es densa, agrupada y se tiñe de un color azul oscuro. El citoplasma de un linfocito maduro normal parece homogéneo, generalmente carece de vacuolas o gránulos, y presenta un color azul pálido. A veces, el citoplasma de algunos linfocitos puede contener pequeños gránulos azurófilos (Zhang et al., 2011). Por otro lado, los linfocitos reactivos muestran un aumento del volumen citoplasmático acompañado con una marcada basofilia. Además, su cromatina nuclear revela una apariencia frágil y suave (Campbell, 2004).

Los *monocitos* son los leucocitos más grandes de la sangre periférica de cualquier especie. Asimismo, son las células con la morfología más variable. Estas células aparecen con una forma redonda y su núcleo también puede ser redondo, ovalado o lobulado. Su cromatina nuclear es menos condensada, por lo que su cromatina se tiñe de forma más pálida comparación con los linfocitos. El citoplasma es abundante, se tiñe de gris azulado pálido y puede tener un aspecto opaco o espumoso, debido a que dentro de los monocitos se puede observar material fagocitado, vacuolas o finos gránulos eosinófilos (Perpiñán et al., 2017; Stacy et al., 2011; Zhang et al., 2011).

Por último, los *trombocitos* son células más pequeñas que los eritrocitos. Demuestran una forma elíptica a fusiforme, con un núcleo central redondo y pequeño con cromatina morada densa. Los trombocitos se caracterizan por una pequeña cantidad de citoplasma de incoloro a azul pálido. Puede ser difícil distinguir algunos trombocitos de los linfocitos pequeños, lo que puede provocar errores en el conteo total y diferencial de leucocitos, lo que conllevaría a confundir el diagnóstico (Tavares-Dias et al., 2008; Nardini et al., 2013; Stacy et al., 2011; Zhang et al., 2011).

Se puede diferenciar a los linfocitos con los trombocitos, principalmente porque los linfocitos son más redondos y el citoplasma se tiñe de color azul más oscuro (Stacy et al., 2011). Es posible diferenciarlos mediante una tinción PAS debido a que los trombocitos son PAS positivos y los linfocitos PAS negativos (Nardini et al., 2013).

Funciones de las células sanguíneas

Los eritrocitos son células especializadas en el transporte de oxígeno desde los pulmones a los tejidos del cuerpo. A su vez, se encargan del transporte de dióxido de carbono desde los tejidos hasta los pulmones. Cuando hay una disminución en el número de eritrocitos, también disminuye la capacidad de transporte de oxígeno, por lo que el animal desarrolla un signo de enfermedad llamado anemia (Kuhn et al., 2017; Louis et al., 2020). La anemia puede tener muchas causas, pero principalmente puede suceder por hemorragias, hemólisis o alteraciones en la eritropoyesis (Saggese, 2009). El signo opuesto a la anemia es la eritrocitosis que sucede por deshidratación o por una producción anormal de eritrocitos por parte de la médula ósea (Sykes et al., 2008).

Con respecto a los leucocitos, los primeros y más abundantes son los heterófilos. Su principal función es la fagocitosis. Un aumento en el recuento de heterófilos se asocia a enfermedades inflamatorias de carácter microbiano o lesiones tisulares (Zhang et al., 2011). También, su aumento puede deberse a causas no inflamatorias como, exceso de glucocorticoides y neoplasias (Martínez-Silvestre et al., 2011).

Por otro lado, los eosinófilos se encuentran íntimamente involucrados con inflamaciones causadas por parásitos. Por esta razón, un aumento en la cantidad de eosinófilos es un indicativo de parasitismo (Innis et al., 2020). Se ha reportado que tortugas sanas pueden llegar a presentar hasta un 20% de eosinófilos en el conteo diferencial de células y aún se considera una cifra normal (Stacy et al., 2011). En cuanto a los basófilos, se conoce que operan de la misma manera que los basófilos de mamíferos

mediante el procesamiento de inmunoglobulinas de superficie y estimulación de la inflamación por liberación de histamina. Igualmente, los basófilos se asocian a procesos parasitarios o virales (Stacy et al., 2011; Zhang et al., 2011).

Los linfocitos de los reptiles funcionan de manera similar a los de las aves y los mamíferos. Su principal función es la producción de anticuerpos y el ataque a material extraño (Zhang et al., 2011). En reptiles es común que el recuento de linfocitos sea más alto que el recuento de heterófilos. En efecto, los linfocitos pueden representar más del 80% del diferencial en ejemplares sanos (Stacy et al., 2011; Martínez-Silvestre et al., 2011). De hecho, la linfopenia en estos animales muchas veces es secundaria a una serie de enfermedades asociadas con la inmunosupresión, el estrés y la desnutrición. Por el contrario, la linfocitosis frecuentemente ocurre durante la cicatrización de heridas, enfermedades inflamatorias, infecciones parasitarias o virales (Stacy et al., 2011). Es importante tomar en cuenta que, la presencia de linfocitos reactivos sugiere una estimulación persistente del sistema inmunitario (Zhang et al., 2011).

Los monocitos en quelonios no representan un gran número en el conteo diferencial. Cuando una tortuga presenta monocitosis es un indicativo de una enfermedad inflamatoria, generalmente de carácter granulomatosa (Zhang et al., 2011). También, son células que indican actividad fagocítica entonces los valores altos de monocitos se presentan junto a una heterofilia debido a que las dos células responden a antígenos por medio de la fagocitosis (Villa et al., 2016).

Finalmente, los trombocitos cumplen la misma función que las plaquetas de mamíferos, desempeñando un papel clave en la hemostasia y conduciendo a la formación de coágulos sanguíneos (Zhang et al., 2011). Son capaces de agregarse en el sitio de lesión vascular y formar el tapón hemostático. Asimismo, se ha reportado que los trombocitos tienen capacidades fagocíticas (Claver et al., 2009).

PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS PARA ESPECIES DE TORTUGAS DEL ECUADOR

Con el fin de sintetizar los parámetros hematológicos de las 31 especies de tortugas presentes en el Ecuador se han integrado un total de 18 artículos científicos y 2 tesis de grado. De estos 20 trabajos de investigación, dos han sido investigaciones realizadas en las islas Galápagos-Ecuador. Es importante destacar que, se utilizó Google Scholar y Pubmed como las bases de datos principales de búsqueda.

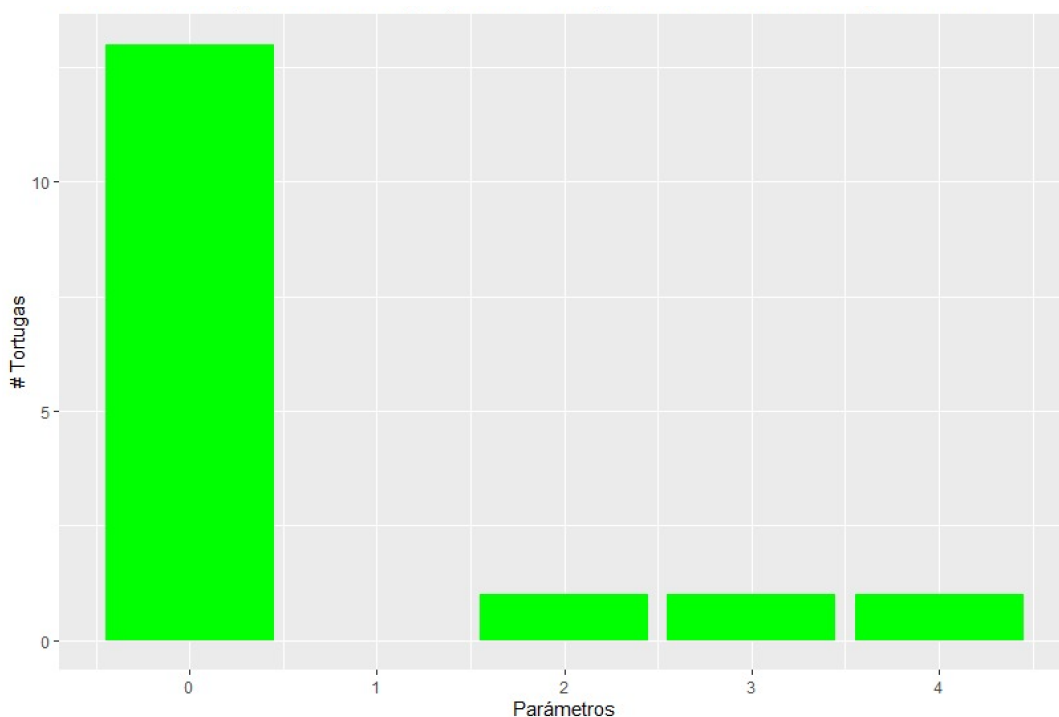
Durante la recopilación de información, se encontraron los siguientes rangos hematológicos separados por tortugas terrestres y acuáticas. Los rangos presentados en la **Tabla #1** son escasos y la mayoría de los parámetros no han sido determinados. En las dos bases de datos utilizadas para este trabajo de investigación se evidencia mucha más información disponible en tortugas acuáticas que en tortugas terrestres.

Tabla # 1 Rangos de referencia para hematocrito, hemoglobina, eritrocitos y leucocitos para 31 especies de tortugas del Ecuador. N/D = No determinado.

| Especie | Característica | HCT (%) | Hb (g/dL) | Eritrocitos (10 ⁶ /μL) | Leucocitos (x10 ³ /μL) | Cita |
|----------------------------|----------------|-----------|-----------|-----------------------------------|-----------------------------------|---|
| Chelonoidis abingdonii | Terrestre | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Chelonoidis becki | Terrestre | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Chelonoidis chathamensis | Terrestre | 14-27 | 5,1-8,5 | N/D | 1,4-7,8 | (Lewbart et al., 2018) |
| Chelonoidis darwini | Terrestre | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Chelonoidis denticulatus | Terrestre | 27,9-35,5 | 8,0-10,0 | 0,71-0,78 | 5,9-8,5 | (Del Roció, 2015) (Medrano, 2022) |
| Chelonoidis donfaustoi | Terrestre | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Chelonoidis duncanensis | Terrestre | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Chelonoidis guntheri | Terrestre | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Chelonoidis hoodensis | Terrestre | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Chelonoidis microphyes | Terrestre | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Chelonoidis niger | Terrestre | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Chelonoidis phantasticus | Terrestre | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Chelonoidis porteri | Terrestre | 14-28 | N/D | N/D | 5,6-42,2 | (Nieto-Claudin et al., 2021) |
| Chelonoidis vandenburghi | Terrestre | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Chelonoidis vicina | Terrestre | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Rhinoclemmys annulata | Terrestre | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Chelus fimbriatus | Acuática | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Chelydra acutirostris | Acuática | 15-45 | 5,0-15 | 0,17-0,62 | 10,0-44,0 | (Neves et al., 2022) |
| Dermochelys coriacea | Acuática | 19-40 | N/D | 0,18-0,58 | 9,2-39 | (Perrault et al., 2022) (Stewart et al., 2012) |
| Eretmochelys imbricata | Acuática | 24-34 | 8,2-11,2 | 0,24-0,34 | 1,3-9,4 | (Caliendo et al., 2010) (Múñoz-Pérez et al., 2017) |
| Kinostemon leucostomum | Acuática | 15-27 | 5,0-9,0 | 0,19-0,53 | 14,0-39,0 | (Neves et al., 2022) |
| Kinostemon scorpoides | Acuática | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Lepidochelys olivacea | Acuática | 13,1-44,5 | 7,1-10,9 | 0,12-0,40 | 5,1-11,3 | (Reséndiz et al., 2019) (Zhang et al., 2011) |
| Mesoclemmys gibba | Acuática | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Mesoclemmys helioestemms | Acuática | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Mesoclemmys raniceps | Acuática | N/D | N/D | N/D | N/D | |
| Peltocephalus dumerilianus | Acuática | 17,1-24,1 | 6,0-11,0 | N/D | 1,33-5,16 | (Anselmo et al., 2021) (Rodríguez-Almonacid et al., 2022) |
| Phrynops geoffroanus | Acuática | 13-32 | 3,8-8,4 | 0,21-0,87 | 1,5-15 | (Ferronato et al., 2009) |
| Podocnemis expansa | Acuática | 15-41 | 4,1-11,8 | 0,52-1,5 | 2,4-10,4 | (Oliveira-Junior et al., 2009) (Rossini et al., 2012) |
| Chelonia mydas | Acuática | 22,6-39,8 | 6,6-12,4 | 0,93-1,93 | 2,5-8,4 | (Kohpamel et al., 2022) |
| Caretta caretta | Acuática | 13-47,3 | 7,8-9,4 | 0,25-0,31 | 5,2-31,1 | (Flint et al., 2010) (Roussellet et al., 2013) |

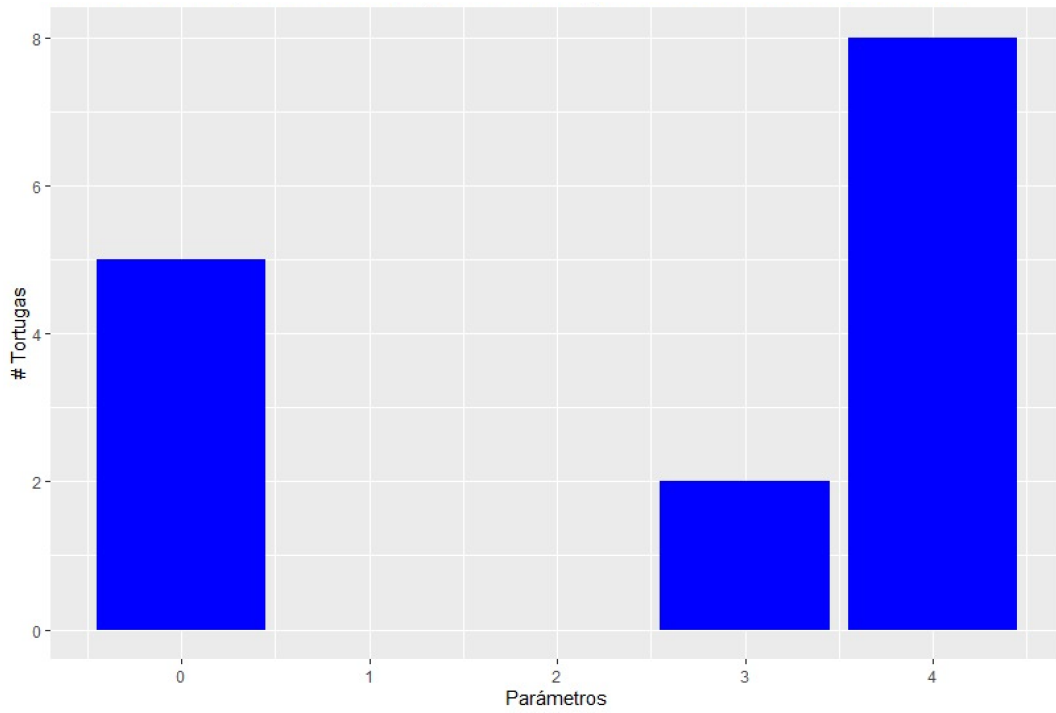
En la **Figura #1** se demuestra la cantidad de parámetros evaluados que fueron completados porque así lo permite la información existente de los distintos recursos bibliográficos para tortugas terrestres. Se observa que trece ejemplares de tortugas terrestres no presentan parámetros reportados, en ninguno de los individuos se reportó solo un parámetro y en tres ejemplares se reportó dos, tres y cuatro parámetros respectivamente.

Figura #1. Número de tortugas terrestres y la cantidad de parámetros hematológicos completos.



En cambio, en la **Figura #2** se muestran la cantidad de parámetros evaluados que fueron completados porque así lo permite la información existente sobre tortugas acuáticas. Se puede evidenciar que cinco ejemplares de tortugas acuáticas no presentan parámetros reportados, en ninguno de los individuos se reportó únicamente uno o dos parámetros y dos tortugas completaron tres de los parámetros mientras que ocho completaron cuatro de los parámetros tomados en cuenta para el estudio.

Figura #2. Número de tortugas acuáticas y la cantidad de parámetros hematológicos completos.



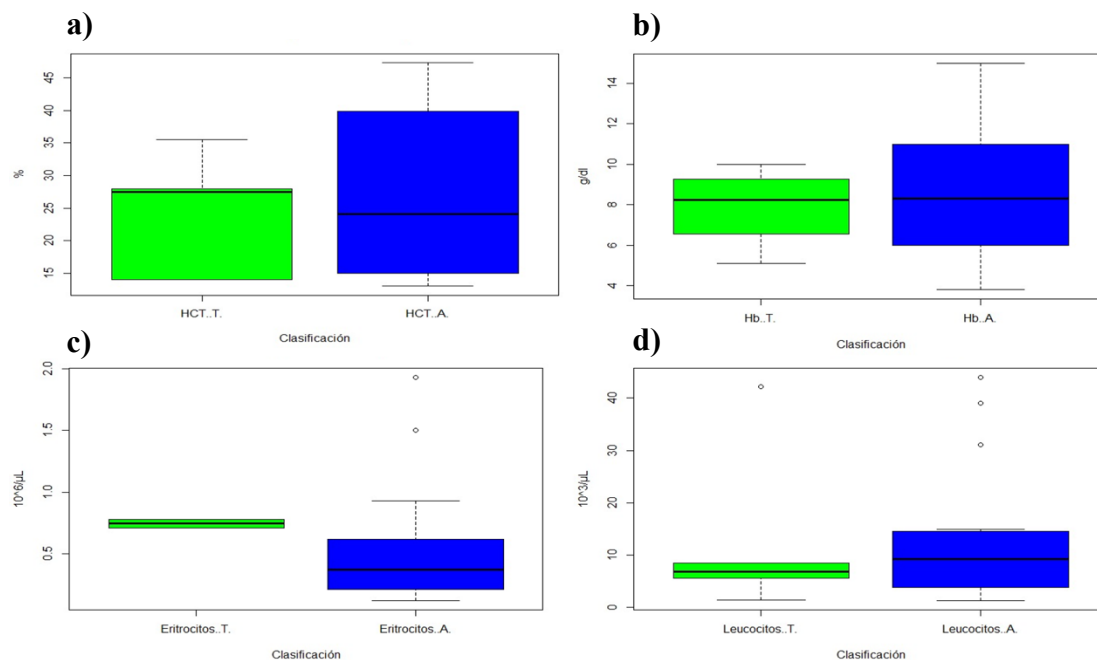
Adicionalmente, se realizó una comparación entre los valores obtenidos por clasificación de tortuga y cuánto estos varían. Cada grupo de tortugas presenta una gran dispersión de datos, como se observa en la **Figura #3**. Las tortugas terrestres demuestran valores bajos y pocos valores altos en su hematocrito. Los valores altos están alejados del valor central, por lo que se puede decir que hay mucha variabilidad en los datos. En cambio, entre los hematocritos de las tortugas acuáticas hay menos variabilidad en valores bajos y más variabilidad en valores altos.

Por otra parte, en los valores de hemoglobina de tortugas terrestres se observa una mejor variabilidad de datos debido a que la distribución de datos se encuentra relativamente simétrica y en acuáticas igual se evidencia una simetría, sin embargo, se pueden encontrar valores altos que se encuentran alejados de la mediana. Con respecto a los eritrocitos, los valores de tortugas terrestres se encuentran en un rango muy estrecho

y cercano a la mediana que en este caso se debe a que la muestra de datos es bastante pequeña. Es diferente con los eritrocitos de tortugas acuáticas, donde se observa más dispersión de datos, donde los valores altos se encuentran más concentrados y aparte hay valores atípicos.

En contraste con los leucocitos de terrestres donde se observa poca variabilidad, solamente se encuentra un valor atípico bastante alejado de la mediana lo que nos indica que hay un valor en la distribución que es significativamente más alto que el resto de los datos. En las acuáticas, se evidencia una asimetría en la distribución de datos por la presencia de tres valores atípicos.

Figura #3. Valores de hematocrito, hemoglobina, eritrocitos y leucocitos por grupo de tortuga. **a)** Valores de hematocrito (HCT) de tortugas terrestres (T) y de tortugas acuáticas (A). **b)** Valores de hemoglobina (Hb) de tortugas terrestres y de tortugas acuáticas. **c)** Valores de eritrocitos de tortugas terrestres y de tortugas acuáticas. **d)** Valores de leucocitos de tortugas terrestres y de tortugas acuáticas.



DISCUSIÓN

Los valores hematológicos de tortugas del Ecuador son bastante escasos, por el momento no es posible realizar una comparación. La razón principal de esto es la falta de investigación que existe en el país (Castillo et al., 2018). Existen varias posibles razones por las cuales puede haber una falta de investigación sobre las tortugas en Ecuador, entre ellas la falta de financiamiento y dificultades para la aprobación de investigación debido a que generalmente se necesitan de permisos (Paz y Miño et al., 2019).

Según White et al. (2022) y Keane et al. (2008) realizar investigaciones de alta calidad y exhaustivas en fauna silvestre puede ser costoso y requiere una variedad de recursos, desde equipo y suministros de laboratorio hasta personal especializado y tiempo de campo. Por otra parte, es común que la investigación de fauna silvestre no sea una prioridad para los gobiernos y las organizaciones de financiamiento, por lo que puede ser difícil obtener fondos suficientes para llevar a cabo proyectos de investigación a gran escala (Arlettaz et al., 2010).

Además, la investigación en fauna silvestre puede requerir recursos especiales, como permisos y autorizaciones gubernamentales, que pueden ser difíciles de obtener (Antonelli et al., 2009). Estos permisos pueden incluir la autorización para capturar animales, tomar muestras biológicas, realizar experimentos y publicar los resultados de la investigación. Específicamente, en el caso del Ecuador para poder realizar investigación en las islas Galápagos se necesitan permisos que han sido mencionados en las publicaciones de Dass et al. (2021) y Salinas de León et al. (2018). La razón de estos requisitos es proteger a la fauna silvestre de posibles daños y garantizar que la investigación se realice de manera ética y responsable.

Al contrario de lo que sucede con la información escasa de parámetros hematológicos, cuando se trata de procedimientos de laboratorio, morfología celular y

sus funciones sí existe una gran variedad de fuentes bibliográficas a las cuales se puede acudir. Es posible que esto suceda porque mucha de la información que está disponible para mamíferos o aves se puede extrapolar a reptiles permitiendo que los métodos sean estandarizados, como los detalla Innis et al. (2020).

Por lo tanto, los parámetros hematológicos específicos de tortugas requieren estudios más particulares y enfocados. Sin embargo, esto puede ser más costoso debido a que necesita de más tiempo y recursos siendo esta una limitante para su investigación. Incluso, se conoce que los parámetros hematológicos para tortugas pueden variar según la especie, sexo, género, ciclo reproductivo, estado fisiológico y condiciones ambientales (Zhang et al., 2011). De esta manera, se vuelve mucho más complicado la obtención de información generalizable.

Finalmente, en lo que se refiere a la cantidad de información disponible sobre las tortugas acuáticas en comparación con las terrestres, probablemente se deba a que existe una mayor cantidad de especies de tortugas acuáticas que se encuentran en peligro de extinción lo que ha aumentado la atención de los investigadores sobre su conservación y ha impulsado la investigación en torno a estas especies (Standford et al., 2020). Otro punto importante para considerar es que a diferencia de las tortugas terrestres muchas de las tortugas acuáticas mencionadas en este trabajo no son endémicas del Ecuador, como por ejemplo *Chelonia mydas*, *Lepidochelys olivacea*, *Dermochelys coriacea*, *Caretta caretta* y entre otras (Tapia et al., 2014). Con esto, una vez más se indicaría la falta de investigación por parte de la comunidad científica ecuatoriana sobre las especies de quelonios propias de su territorio.

CONCLUSIÓN

Los datos de la presente revisión literaria sobre parámetros hematológicos y sus respectivos rangos debe ser considerada información referencial debido a que no hay

suficientes datos que evidencien significativamente las diferencias en los valores hematológicos de tortugas terrestres y acuáticas del Ecuador. La falta de investigación puede dificultar la comprensión de la biología y ecología de las tortugas en Ecuador, lo que a su vez impide la implementación de estrategias efectivas para su tratamiento, conservación y manejo.

RECOMENDACIONES

Yo recomiendo realizar investigaciones que involucren la medición de parámetros hematológicos para determinar rangos de referencia en especies de tortugas con información ausente en el presente trabajo. Específicamente aquellas tortugas gigantes que se encuentren en las Islas Galápagos como: *Chelonoidis becki*, *Chelonoidis darwini*, *Chelonoidis vicina*, *Chelonoidis hoodensis* o *Chelonoidis guntheri* (Márquez et al., 2004).

REFERENCIAS

- Anselmo, N., França, M., Santos, M., Pantoja-Lima, J., Silva, C., Aride, P., & Oliveira, A. (2021). *HEMATOLOGICAL AND BLOOD BIOCHEMISTRY PARAMETERS OF CAPTIVE BIG-HEADED AMAZON RIVER TURTLES, Peltocephalus dumerilianus (TESTUDINES: PODOCNEMIDIDAE)*. 16(2), 207-213.
<http://dx.doi.org/10.15446/abc.v26n2.80616>
- Antonelli, A., & Rodríguez, V. (2009). *Brazil should facilitate research permits*. 23(5), 1068-1069. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2009.01300.x>
- Arlettaz, R., Schaub, M., & Fournier, J. (2010). *From Publications to Public Actions: When Conservation Biologists Bridge the Gap between Research and Implementation*. 60(10), 835-842. <https://doi.org/10.1525/bio.2010.60.10.10>
- Ballard, B., Cheek, R., & Rivera. (2016). *Exotic Animal Medicine for the Veterinary Technician*. Wiley-Blackwell. <https://www.wiley.com/en-fr/Exotic+Animal+Medicine+for+the+Veterinary+Technician%2C+3rd+Edition-p-9781118914281>
- Bryant, Z., Harding, L., Grant, S., & Rendle, M. (2015). *A method for blood sampling the Galápagos tortoise, Chelonoidis nigra using operant conditioning for voluntary blood draws*. 7-10.
- Caliendo, V., & McKinney, P. (2010). *Plasma Biochemistry and Hematology Values in Juvenile Hawksbill Turtles (Eretmochelys imbricata) Undergoing Rehabilitation*. 20(4), 117-121. <https://doi.org/10.5818/1529-9651-20.4.117>
- Cabrera, M., Li, O., Gálvez, H. O. (2011) *Hematological values of the yellow-footed tortoise (Geochelone denticulata) raised in captivity*. Scielo, 22(2). http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S160991172011000200010

- Campbell, T. W. (2004). *Hematology of Lower Vertebrates*. American College of Veterinary Pathologists.
<https://wildlifehematology.uga.edu/FurtherReading/Campbell%202004.pdf>
- Castillo, J. A., & Powell, M. (2019). *ANÁLISIS DE LA PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DEL ECUADOR E IMPACTO DE LA COLABORACIÓN INTERNACIONAL EN EL PERIODO 2006-2015*. 42(1). <https://doi.org/10.3989/redc.2019.1.1567>
- Cerreta, A., & Houck, E. (2020). *Hematology of the keeled box turtle (Cuora mouhotii)*. *Veterinary Clinical Pathology*. 49(2), 227-23. <https://doi.org/10.1111/vcp.12857>
- Claver, J. A., & Guaglia, A. (2009). *Comparative Morphology, Development, and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates*. 18(2), 87-97.
<https://doi.org/10.1053/j.jepm.2009.04.006>
- Dass, K., Lewbart, G., Muñoz-Perez, J. P., & Yépez, M. (2021). *Whole blood fatty acid concentrations in the San Cristóbal Galápagos tortoise (Chelonoidis chathamensis)*. 9(1). <https://doi.org/10.7717/peerj.11582>
- Davari, F., Molazem, M., Tootian, Z., Soltani, M., & Khanamooie-Ashi, M. (2020). *Computed Tomographic Anatomy of the Lungs, Bronchi and Trachea in the Caspian Pond Turtle (Mauremys caspica)*. 15(1), 70-77.
<https://doi.org/10.30500/ivsa.2020.218718.1210>
- Dilrucki, N. H., Jayasooriya, A. P., Prathapasinghe, G. A (2019) *Hematological parameters and morphological characteristics of blood cells in turtle and tortoise species within captivity in Sri Lanka*. *Pubmed*, 6(3), 266-271. 10.5455/javar.2019.f343
- Girling, S, J; Raiti, P. (2019). *BSAVA Manual of Reptiles*. British Small Animal Association.
- Harr, K. E., Alleman, R., Dennis, P., Maxwell, L., Lock, B., Bennet, A., & Jacobson, E. (2001). *Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells and hematologic*

and plasma biochemical reference ranges in green iguanas. 218(6), 915-921.

<https://doi.org/10.2460/javma.2001.218.915>

Innis, C., & Knotek, Z. (2020). *Exotic Animal Laboratory Diagnosis*. John Wiley & Sons.

Keane, A., Jones, P. G., & Edwards-Jones, G. (2008). *The sleeping policeman:*

Understanding issues of enforcement and compliance in conservation. 11(2), 75-82.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2008.00170.x>

Klein, K., Gartlan, B., Doden, G., Fredrickson, K., Adamovics, L., & Allender, M. (2021).

COMPARING THE EFFECTS OF LITHIUM HEPARIN AND DIPOTASSIUM ETHYLENEDIAMINETETRAACETIC ACID ON HEMATOLOGIC VALUES IN EASTERN BOX TURTLES (TERRAPENE CAROLINA CAROLINA). 51(4), 999-1006.

<https://doi.org/10.1638/2020-0109>

Kophamel, S., Rudd, D., Ward, L., Shum, E., & Ariel, E. (2022). *Haematological and*

biochemical reference intervals for wild green turtles (Chelonia mydas): A Bayesian

approach for small sample sizes. 10(1), 1-11. https://doi.org/10.1093/conphys/coac043

Kuhn, V., Diederich, L., Stevenson, T. C., Kramer, C., Lückstädt, W., Panknin, C., &

Suvorava, T. (2017). *Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation,*

Nitric Oxide Metabolism, Anemia. 26(13), 718-742.

<https://doi.org/10.1089/ars.2016.6954>

Lewbart, G., Griffioen, J. A., Muñoz-Perez, J. P., Ortega, C., Loyola, A., Roberts, S., Schaaf,

G., Steinberg, D., Osegueda, S., Michael, L., & Páez-Rosas, D. (2018). *Biochemistry*

and hematology parameters of the San Cristóbal Galápagos tortoise (Chelonoidis

chathamensis). 6(1), 1-8. https://doi.org/10.1093/conphys/coy004

Louis, M., Cerreta, A., Griffioen, J., Mehalick, M., Lewbart, G., & Petritz, O. (2020).

Homologous Whole Blood Transfusion for Treatment of Severe Anemia in Five Eastern

Box Turtles (Terrapene carolina carolina). 35, 27-33.

<https://doi.org/10.1053/j.jepm.2020.05.013>

Lozada, C. del R. (2015). *VALORES HEMATOLÓGICOS Y DE BIOQUÍMICA SANGUÍNEA DE LA TORTUGA MOTELO (Chelonoidis denticulata) EN EL CANTÓN PUYO PARROQUIA TARQUI* [Trabajo de Investigación, Universidad Técnica de Ambato].
<https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/26067>

Márquez, C., Wiedenfeld, D., & Snell, H. (2004). *Population status of giant land tortoises (Geochelone spp., Chelonya: Testudinae) from the Galapagos islands*. 3(1).
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-22162004000100014&script=sci_arttext

Martínez-Silvestre, A., Lavín, S., & Cuenca, R. (2011). *Hematología y citología sanguínea en reptiles*. 31(3), 131-141.

Martínez-Silvestre, A., Perpiñán, D., Marco, I., & Lavín, S. (2002). *Venipuncture Technique of the Occipital Venous Sinus in Freshwater Aquatic Turtles*. 12(4), 31-33.
<https://doi.org/10.5818/1529-9651.12.4.31>

Muñoz-Perez, J. P., Lewbart, G., & Hirschfeld, M. (2017). *Blood gases, biochemistry and haematology of Galápagos hawksbill turtles (Eretmochelys imbricata)*. 5(1), 1-9.
<https://doi.org/10.1093/conphys/cox028>

Nardini, G., Leopardi, S., & Bielli, M. (2013). *Clinical Hematology in Reptilian Species*. 16, 1-30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvex.2012.09.001>

Neves, F. (2022). *Parámetros hematológicos en las tortugas de pantano Chelydra acutirostris y Kinosternon leucostomum en cautiverio*. Universidad de Cuenca.
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/37819/1/Trabajo%20de%20Titulacion.pdf>

- Neves, F. B., Méndez, M. S., & Guevara, G. E. (2022). *Hematological reference values in captive Chelydra acutirostris tortoises*. 30(2), 115-117.
- Nieto-Claudín, A., Palmer, J. L., Esperón, F., & Deem, S. L. (2021). *Haematology and plasma biochemistry reference intervals for the critically endangered western Santa Cruz Galapagos tortoise (Chelonoidis porteri)*. 9(1), 1-11.
<https://doi.org/10.1093/conphys/coab019>
- Oliviera-Junior, A. A., Tavares-Dias, M., & Marcon, J. L. (2008). *Biochemical and hematological reference ranges for Amazon freshwater turtle, Podocnemis expansa (Reptilia: Pelomedusidae), with morphologic assessment of blood cells*. 146-151.
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.05.015>
- Panawala, L. (2017). *Difference Between Neutrophils Eosinophils and Basophils*. 1-10.
- Paz y Miño, C., & Ochoa, I. (2019). *La problemática de la investigación nacional y los aspectos éticos involucrados*. 4(3). <https://doi.org/10.23936/pfr.v4i3.127>
- Perpiñán, D., Hernandez, S., Latimer, K (2008) *Hematology of the Pascagoula Map Turtle (Graptemys Gibbonsi) and the Southeast Asian Box Turtle (Cuora amboinensis)*. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 39(3), 460-463. 10.1638/2007-0044.1
- Perpiñán, D. (2017a). *Chelonian haematology 1. Collection and handling of samples*. 29(5), 194-202. <https://doi.org/10.1136/inp.j1692>
- Perpiñán, D. (2017b). *Chelonian haematology 2. Identification of blood cells*. 39, 274-283.
<https://doi.org/10.1136/inp.j2361>
- Perrault, J., Page-Karjian, A., Morgan, A. N., Burns, L. K., & Stacy, N. I. (2022). *Morphometrics and blood analytes of leatherback sea turtle hatchlings (Dermochelys coriacea) from Florida: Reference intervals, temporal trends with clutch deposition date, and body size correlations*. 19(2), 313-324. <https://doi.org/10.1007/s00360-021-01422-5>

- Reséndiz, E., Fernández-Sanz, H., Barrientos-Torres, D. S., & Lara, M. M. (2019). *Clinical pathology and health reference values for loggerhead sea turtles (Caretta caretta) and olive ridley turtles (Lepidochelys olivacea) in the Gulf of Ulloa, Baja California Sur, Mexico*. 28(1), 1637-1650. <https://doi.org/10.1007/s00580-019-02985-0>
- Rodríguez-Almonacid, C. C., Vargas-León, C. M., Moreno-Torres, C. A., & Matta-C, N. E. (2022). *Consideraciones para la obtención de sangre en tortugas: Sitios de venopunción y anticoagulantes*. 27(2), 1-11. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2256>
- Rodríguez-Almonacid, C., Fuentes-Rodríguez, G., González, L. P., Moreno-Torres, C., & Matta, N. E. (2022). *Hematological and blood chemistry parameters of a Podocnemis vogli and P. unifilis captive population in Colombia*. 1-10.
- Rossini, M., Blanco, P. A., & Marín, E. (2012). *Haematological values of post-laying Arrau turtle (Podocnemis expansa) in the Orinoco River, Venezuela*. 128-131.
- Rousselet, E., Stacy, N. I., & LaVictoire, K. (2013). *HEMATOLOGY AND PLASMA BIOCHEMISTRY ANALYTES IN FIVE AGE GROUPS OF IMMATURE, CAPTIVE-REARED LOGGERHEAD SEA TURTLES (CARETTA CARETTA)*. 44(4), 859-874.
- Saggese, M. (2009). *Clinical Approach to the Anemic Reptile*. 18(2), 98-111. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2009.04.003>
- Salinas de León, P., Philips, B., & Sivji, M. (2018). *Deep-sea hydrothermal vents as natural egg-case incubators at the Galapagos Rift*. 17(8), 1-7. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20046-4>
- Sousa, R., Nogueira, L., Pessoa, G., Feitosa, M., Carvalho, M., & Moura, W. (2015). *MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF PERIPHERAL BLOOD CELLS OF Chelonoidis carbonaria*. 31(1), 242-247.
- Stacy, N., Alleman, R., & Saylor, K. (2011). *Diagnostic Hematology of Reptiles*. 31, 87-108. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2010.10.006>

- Stacy, N., Hollinger, C., Arnold, J., Cray, C., Pendl, H., Nelson, Pi., & Harvey, J. (2022). *Left shift and toxic change in heterophils and neutrophils of non-mammalian vertebrates: A comparative review, image atlas, and practical considerations*. 51, 18-44. <https://doi.org/10.1111/vcp.13117>
- Stanford, C., Iverson, J., Rhodin, A., & Paul, P. (2020). *Turtles and Tortoises Are in Trouble*. 30(12), 721-735. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.04.088>
- Stewart, K., Mitchell, M., & Norton, T. (2012). *MEASURING THE LEVEL OF AGREEMENT IN HEMATOLOGIC AND BIOCHEMICAL VALUES BETWEEN BLOOD SAMPLING SITES IN LEATHERBACK SEA TURTLES (DERMOCHELYS CORIACEA)*. 43(4), 719-725. <https://doi.org/10.1638/2011-0045R.1>
- Sykes, J. M., & Klaphake, E. (2008). *Reptile Hematology*. 11, 481-500. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.005>
- Tapia, L. (2014). *Plan Nacional para la Conservación de Tortugas Marinas*. Ministerio del Ambiente. <http://www.iacseaturtle.org/docs/planes/Plan-Nacional-Tortugas-Ecuador-PdF.pdf>
- Vap, L., Harr, K., Freeman, K., Getzy, K., Lester, S., & Friedrichs, K. (2012). *ASVCP quality assurance guidelines: Control of preanalytical and analytical factors for hematology for mammalian and nonmammalian species, hemostasis, and crossmatching in veterinary laboratories*. 41(1), 8-17. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2012.00413.x>
- Villa, C. A., Flint, M., Bell, I., Hof, C., Limpus, C. J., & Gaus, C. (2017). *Trace element reference intervals in the blood of healthy green sea turtles to evaluate exposure of coastal populations*. 220, 1465-1476. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.085>
- Villiers, E., & Blackwood, L. (2015). *Manual de diagnóstico de laboratorio en pequeños animales*. LEXUS.

- West, G; Heard, D; Caulkett, N (2007) *Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia*. Blackwell Publishing.
- White, T. B., Petrovan, S., & Christie, A. (2022). *What is the Price of Conservation? A Review of the Status Quo and Recommendations for Improving Cost Reporting*. 72(5), 461-471. <https://doi.org/10.1093/biosci/biac007>
- Zhang, F., Gu, H., & Li, P. (2011). *A Review of Chelonian Hematology*. 2(1), 12-20. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1245.2011.00012>
- Zhang, F.-Y., Li, P.-P., Gu, H.-X., & Ye, M.-B. (2011). *Hematology, Morphology, and Ultrastructure of Blood Cells of Juvenile Olive Ridley Sea Turtles (*Lepidochelys olivacea*)*. 10(2), 250-256. <https://doi.org/10.2744/CCB-0890.1>