

Parámetros hematológicos de la comadreja overa, *Didelphis albiventris* (Lund, 1841), de poblaciones silvestres del centro de la Argentina

Haematological parameters of the White-eared Opossum, *Didelphis albiventris* (Lund, 1841), wild populations of central Argentina

Tarragona, E.L.^{1,3}; Zurvera, D.^{1,3}; Manzoli, D.E.^{1,3}; Correa, A.I.^{1,3}; Delgado, A.R.^{2,3}; Mastropaolo, M.^{4,5}; Barengo, E.^{1,3}; Beldomenico, P.M.^{1,3,5}.

¹Laboratorio de Ecología de Enfermedades, ²Cátedra de Bacteriología y Micología. ³Grupo Capibara, ⁴Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. Kreder 2805 (3080) Esperanza, Santa Fe, Argentina. ⁵Concejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue obtener parámetros hematológicos en poblaciones silvestres de comadreja overa *Didelphis albiventris* de la región centro de la Argentina. Se capturaron 39 individuos, a todos ellos se les realizó un recuento total y diferencial de células sanguíneas. Los valores promedio (\pm desvío estándar) obtenidos fueron: eritrocitos $5,01 (\pm 2,4) \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$; leucocitos $27.097 (\pm 14.313) \mu\text{L}^{-1}$; neutrófilos $7.600 (\pm 7.097) \mu\text{L}^{-1}$ (incluye inmaduros, $794 (\pm 2.738) \mu\text{L}^{-1}$); linfocitos $13.110 (\pm 7.541) \mu\text{L}^{-1}$; basófilos $1.218 (\pm 1.441) \mu\text{L}^{-1}$; eosinófilos $1.983 (\pm 2.458) \mu\text{L}^{-1}$; y monocitos $2.321 (\pm 2.818) \mu\text{L}^{-1}$. La existencia de asociaciones entre estos parámetros y factores ambientales (estación) y del animal (sexo y edad) fue evaluada mediante regresión lineal multivariable. Se estableció que los neutrófilos estuvieron significativamente asociados a sexo ($p=0.006$). Los machos tenían la mitad de los niveles de neutrófilos que las hembras. Los eosinófilos estuvieron asociados a la estación. En verano hubo significativamente más eosinófilos que en invierno ($p=0.042$). En los extendidos sanguíneos se observaron alteraciones morfológicas de eritrocitos en aproximadamente 55% de las muestras analizadas, las más habituales fueron pilas en monedas y estomatocitos. También se visualizó un tipo celular no descrito anteriormente para esta especie, leucocito anular.

Palabras clave: (*Didelphis albiventris*), (hematología), (leucocitos)

Correspondencia e-mail: Evelina Tarragona evelina_tarragona@hotmail.com

Recibido: 20-12-2011

Aceptado: 12-03-2012

SUMMARY

The objective of this study was to assess haematological parameters in free-ranging white-bellied opossums (*Didelphis albiventris*) in the central region of Argentina. Total and differential blood cell counts were conducted in thirty-nine captured individuals. The mean (\pm standard deviation) values obtained were: erythrocytes $5.01 (\pm 2.4) \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$, leukocytes: $27,097 (\pm 14,313) \mu\text{L}^{-1}$; neutrophils $7,600 (\pm 7,097) \mu\text{L}^{-1}$ (including immature neutrophils: $794 (\pm 2,738) \mu\text{L}^{-1}$); lymphocytes: $13,110 (\pm 7,541) \mu\text{L}^{-1}$; basophils: $1,218 (\pm 1,441) \mu\text{L}^{-1}$; eosinophils: $1,983 (\pm 2,458) \mu\text{L}^{-1}$; monocytes: $2,321 (\pm 2,818) \mu\text{L}^{-1}$. Multivariable statistical analysis showed that neutrophils were strongly associated with sex ($p = 0.006$). The levels of neutrophils in females doubled that of males. Eosinophils were associated with season. In summer there were significantly greater eosinophils levels than in the winter ($p = 0.042$). Morphological alterations of erythrocytes were observed in approximately 55% of the blood samples, most of which were stomatocytes and rouleau. A cell type not previously described for this species, annular leukocyte, was also found.

Key words: (*Didelphis albiventris*), (hematology), (leukocytes).

INTRODUCCIÓN

Los marsupiales, son junto con los monotremas, los mamíferos terrestres más antiguos del mundo, y sólo se encuentran en América y Oceanía. Las comadreas o zarigüeyas, *Didelphis* Linnaeus, 1758, son marsupiales endémicos de las Américas, que pertenecen a la Familia Didelphidae del orden Didelphimorphia. Son animales omnívoros, siendo los principales componentes de su dieta roedores, insectos, moluscos y vegetales¹¹. En Argentina existen tres especies pertenecientes a este género: comadreja de orejas blancas *Didelphis pernigra* (J.A.Allen 1900), comadreja de orejas negras *Didelphis aurita* (Wied- Neuwied 1826) y comadreja overa o común *Didelphis albiventris* (Lund 1841), siendo esta última la de distribución más amplia². La comadreja overa vive en áreas rurales, suburbanas, e incluso urbanas¹⁴, lo que determina un substancial contacto con el hombre y sus animales domésticos. Es por ello que esta especie tiene el potencial de actuar como nexo entre ciclos epidemiológicos silvestres y domésticos, lo que la vuelve de especial importancia para la ecología de muchas enfermedades zoonóticas¹⁴. Puede actuar como reservorios de leishmaniosis¹⁶, mal de Chagas¹⁴,

toxoplasmosis y neosporosis¹⁹. También es fuente de salmonelosis⁶ y brucelosis⁷.

La hematología es una herramienta útil para evaluar dinámicas de salud en animales silvestres³. Los tipos celulares presentes en la sangre de mamíferos pueden dividirse en eritrocitos o células rojas y leucocitos o células blancas que a su vez se clasifican como granulocitos (neutrófilo, basófilos y eosinófilos) y agranulocitos (linfocitos y monocitos)⁴ (Figura 1). Otro tipo celular hallado en marsupiales de Australia son los leucocitos anulares¹⁸.

Variaciones en las concentraciones de distintos tipos de células sanguíneas en un animal, así como alteraciones en la morfología de éstas, son indicadoras de estados fisiológicos o patológicos particulares.

Evaluar índices genéricos de salud en poblaciones silvestres de comadreja overa es valioso para conocer más sobre la historia natural de esta especie. En este estudio se reportan parámetros hematológicos para contribuir a la descripción de las dinámicas de salud de poblaciones silvestres de *D. albiventris* en la región centro de la República Argentina, asociando variabilidad en estos parámetros a factores ambientales (estación) y del animal (sexo y edad).

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó desde marzo del 2010 hasta junio del 2011. Se realizaron 13 campañas de captura de comadreas en dos sitios. Uno fue la Reserva Natural de la Escuela de Agricultura, Ganadería y Granja de la Universidad Nacional del Litoral. Ésta consta de una superficie total de 70 hectáreas localizadas a la vera del río Salado, un importante corredor biológico en la ciudad de Esperanza, departamento Las Colonias, provincia de Santa Fe (31,23° S. 60,54° W)⁸. El segundo punto de muestreo se realizó en la periferia de un establecimiento lechero en Rafaela, departamento Castellanos, provincia de Santa Fe (31,11° S. 61,30° W). En cada campaña las trampas permanecieron activadas por dos noches en la localidad de Esperanza y solo una noche en Rafaela.

En la Reserva de la Escuela Granja se realizaron dos muestreos por estación y en Rafaela un muestreo por estación.

Las capturas se realizaron con trampas tipo Tomahawk. Se colocaron 40 trampas enumeradas, dispuestas en cuatro transectas de diez cada una. Las trampas con numeración par fueron cebadas con menudo de pollo y las impares con una preparación a base de manzana, banana y miel.

Los individuos capturados fueron anestesiados en el sitio de captura con Ketamina 15 mg/kg y Diazepam 0,5 mg/kg por vía intramuscular. Para determinar la edad del individuo se utilizó la fórmula de los maxilares superiores, que considera la erupción y el desgaste dentario¹³.

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena caudal en tubos conteniendo ácido etilendiaminotetracético (EDTA), como anticoagulante. Se realizaron también extendidos de sangre en el momento de la extracción sin anticoagulante.

Cada individuo fue pesado, medido (largo total, largo de cola, largo de oreja y largo de pata) y se determinó sexo y estado corporal.

Todos los animales capturados fueron vueltos a colocar en su trampa y liberados cuando se recuperaron del estado de anestesia. Las

muestras extraídas fueron llevadas al laboratorio, refrigeradas a 4-8°C y procesadas en menos de 24 horas⁵.

Se realizó el recuento total de células utilizándose dos diluciones, 1:200 y 1:20, para eritrocitos y leucocitos, respectivamente. La dilución para eritrocitos se realizó con solución fisiológica, y la de leucocitos con solución de ácido acético glacial al 4% con 0,5% de violeta cristal. La tinción de los extendidos de sangre se realizó con la técnica May Grünwald-Giemsa.

Se analizaron los datos mediante regresión lineal multivariable utilizando el paquete de software estadístico R (The R Foundation for Statistical Computing; www.r-project.org). Las variables dependientes fueron los conteos de células sanguíneas. En los casos en que fue necesario, se transformaron las variables mediante exponenciación a valores apropiados para aproximar a la distribución normal. Se partió de un modelo máximo que incluyó como variables independientes el sexo (hembra o macho), la edad (variable ordinal con clases etarias del I al VII) y la estación del año (primavera, verano, otoño, invierno). Los términos que no estuvieron significativamente asociados a la variable dependiente fueron retirados uno a uno del modelo, utilizando el criterio de información de Akaike (AIC)¹.

RESULTADOS

Se capturaron un total de 39 individuos, de los cuales 23 fueron machos y 16 hembras. También se determinó que 22 de ellos eran adultos y 17 juveniles. La Tabla 1 resume la estadística descriptiva de los parámetros hematológicos evaluados.

En los extendidos sanguíneos se observaron alteraciones morfológicas de eritrocitos en aproximadamente 55% de las muestras analizadas. Las más habituales fueron pilas en monedas y estomatocitos. En un 25% de las muestras se visualizó un tipo celular que presentaba núcleo anular y citoplasma basófilo, al que se denominó leucocito anular (Figura 2).

Con respecto al análisis estadístico, los glóbulos rojos no resultaron significativamente

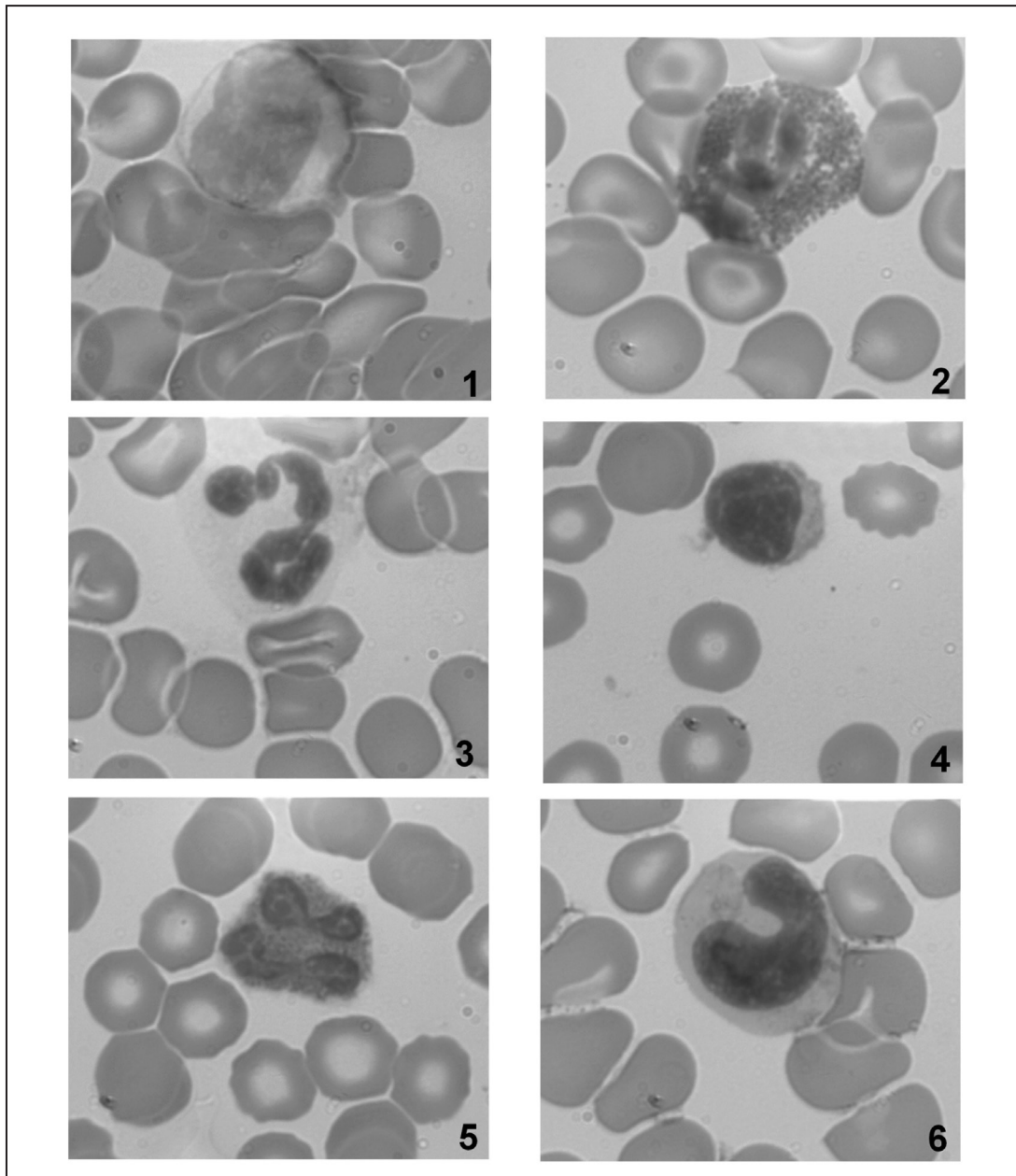


Figura 1. (1) Monocito, (2) Eosinófilo, (3) Neutrófilo, (4) Linfocito, (5) Basófilo y (6) Neutrófilo inmaduro en sangre de *D. albiventris* (tinción May Grünwald- Giemsa, 1.000x).

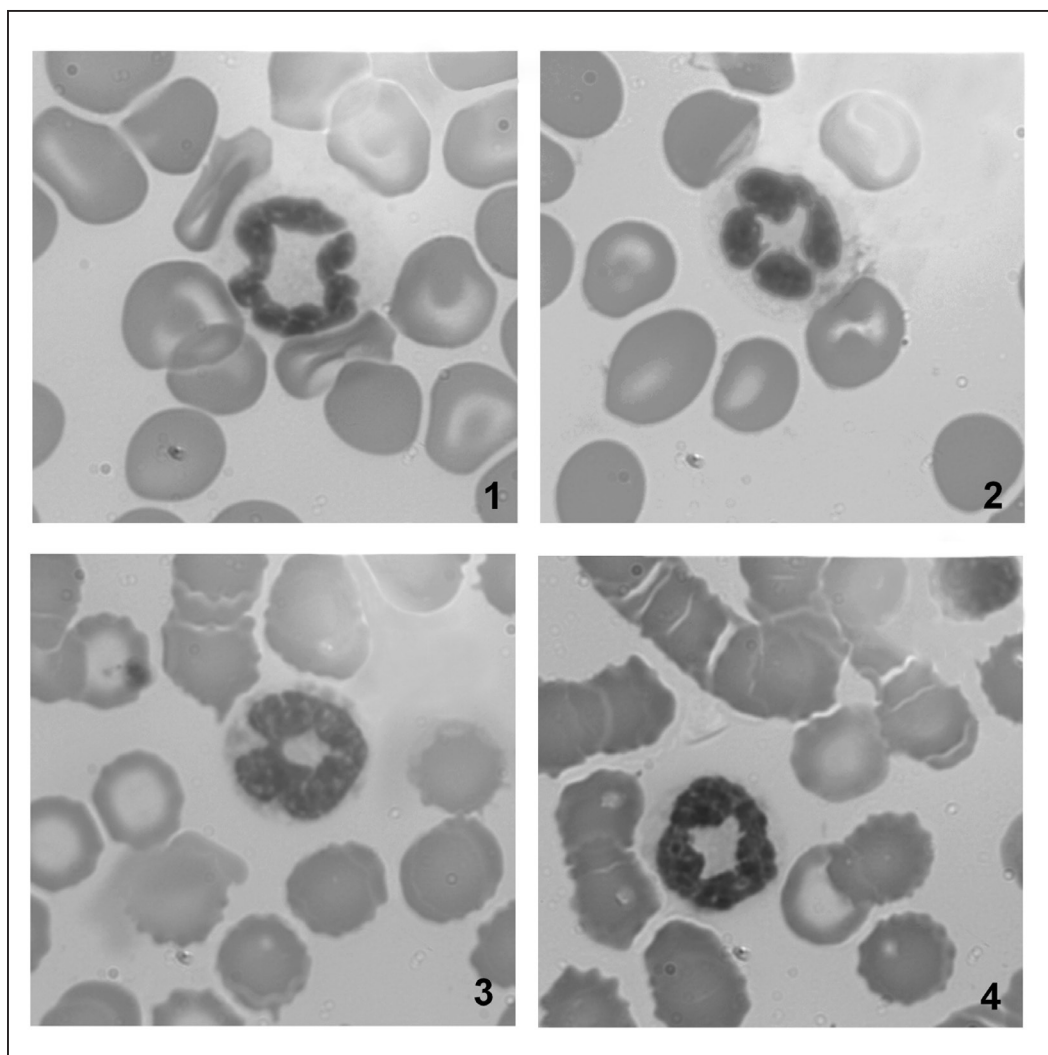


Figura 2. (1) Neutrófilo inmaduro, (2) Neutrófilo maduro, (3) y (4) Leucocitos anulares en sangre de *D. albiventris* (técnica May Grünwald- Giemsa, 1.000x).

Tabla 1. Estadística descriptiva. Muestra el número de individuos analizados (N), media, desvío estándar, mediana y los puntos máximos y mínimos de los valores hematológicos de poblaciones de *D. albiventris*, todos expresados como cantidad células por microlitro de sangre, a excepción de N.

Tipo celular	N	Media	SD	Mediana	Máximo	Mínimo
Eritrocitos	39	5.014.359	2.405.253	4.970.000	11.970.000	1.100.000
Leucocitos	39	27.097	14.313	24.800	85.350	8.850
Neutrófilos	38	7.600	7.097	5.587	30.648	875
Linfocitos	38	13.110	7.541	12.224	40.115	2.616
Basófilos	38	1.218	1.442	791	7.028	0
Eosinófilos	38	1.983	2.458	1.112	11.592	0
Monocitos	38	2.321	2.818	1.441	14.509	0
Neutrófilos inmaduros	38	794	2.738	0	17.070	0

asociados a ningún término. El término más cercano a una asociación significativa fue sexo ($p=0.139$).

Los neutrófilos se encontraron significativamente asociados a sexo ($p=0.006$). Las hembras tuvieron, en promedio, el doble de los niveles de neutrófilos que los machos (Figura 3).

Los eosinófilos estuvieron significativamente asociados a la estación (Figura 4). En el verano hubo más eosinófilos que en el invierno (que fue la estación con menor nivel de eosinófilos) ($p=0.042$).

DISCUSIÓN

El presente trabajo constituye el primer reporte de parámetros hematológicos de poblaciones silvestres de *D. albiventris* de Argentina.

Nuestro tamaño de la muestra fue bajo ($n=39$), aunque valioso considerando la dificultad de trabajar con captura viva de especies silvestres. Por eso, la no detección de

asociaciones con las variables estudiadas no es prueba de que éstas no existan. Sin embargo, se pudieron establecer asociaciones significativas entre neutrófilos y sexo, y eosinófilos y estación.

Las hembras presentaron recuentos de neutrófilos dos veces mayores que los machos. La elevación de los niveles de neutrófilos, o neutrofilia, es comúnmente causada por inflamación aguda ante una infección bacteriana o como respuesta al estrés agudo o crónico¹⁵. Es decir, diferencias entre sexos podrían suscitarse por una exposición diferencial a infecciones agudas o a estrés. Otro trabajo realizado en poblaciones de esta misma especie en Brasil mostró que la diferencia entre recuentos de neutrófilos para cada sexo no fue significativa e incluso los valores de neutrófilos de los machos eran levemente mayores que los de las hembras⁵. Por otro lado, trabajos realizados con roedores, muestran mayores recuentos de neutrófilos en machos³. Es necesario profundizar la investigación en comadrejas para dilucidar la validez y la causa de esta asociación.

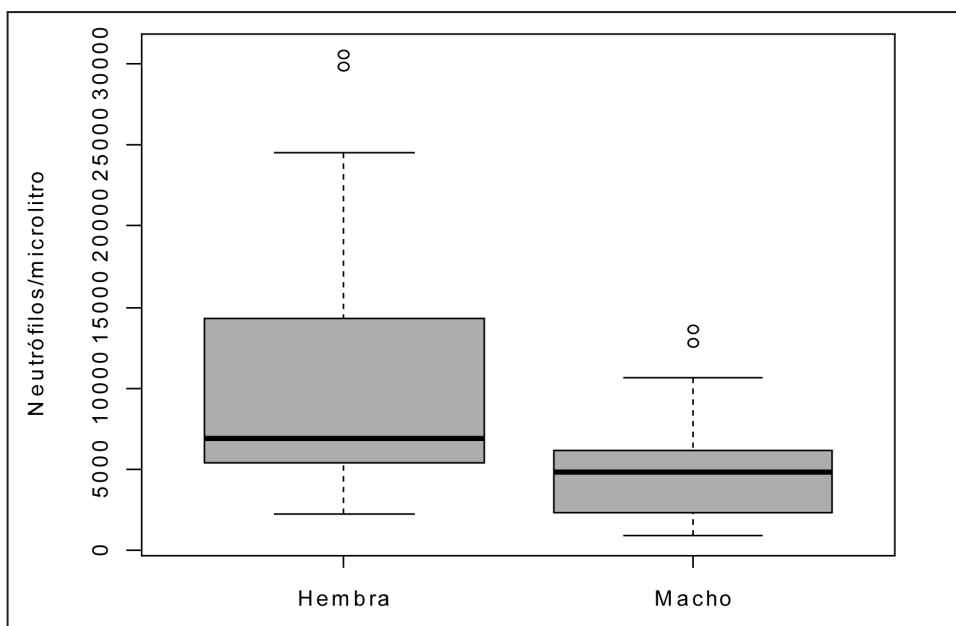


Figura 3. Niveles de neutrófilos en relación al sexo. La distribución de los niveles de neutrófilos en hembras es visiblemente mayor que la de los machos

Los eosinófilos pueden elevarse debido a enfermedades parasitarias y procesos inflamatorios en la piel, pulmón, intestino y útero, órganos que normalmente contienen numerosas células cebadas⁹. En el presente trabajo se encontró evidencia de estacionalidad en los niveles de eosinófilos. En el estudio en roedores arriba mencionado³ se halló que el factor más importante que gobernaba la variabilidad en los conteos de células sanguíneas eran las estaciones del año. Nuestros hallazgos concuerdan con trabajos realizados en marsupiales de Australia, los cuales también mostraron niveles bajos de eosinófilos durante el invierno, posiblemente asociados a una menor carga parasitaria en comparación al verano¹⁷.

En nuestro estudio se hallaron leucocitos anulares. Este tipo celular, según el conocimiento de los autores, no ha sido reportado con anterioridad en marsupiales de Sudamérica,

pero sí de Australia¹⁸. Al observar el extendido sanguíneo de un individuo en que también se registró la presencia de absceso, se detectó que los niveles de este tipo celular eran elevados. Sería importante realizar estudios citológicos para determinar si se trata de un estadio de monocito o de neutrófilo, y si su presencia podría estar asociada a cuadros patológicos.

El hallazgo de estomatocitos en los extendidos sanguíneos, ya han sido descrito en otras especies de marsupiales¹⁸. Éstos se observan habitualmente como artefactos en las regiones más gruesas del extendido sanguíneo, posiblemente debido a un error en la realización de la técnica. En otras especies, se ha descrito como posible causa la condrodistrofia¹².

También se observaron pilas en monedas (adhesión de los glóbulos rojos en cadena), esto podría deberse a una característica hematológica de esta especie como lo es en el caso de equinos

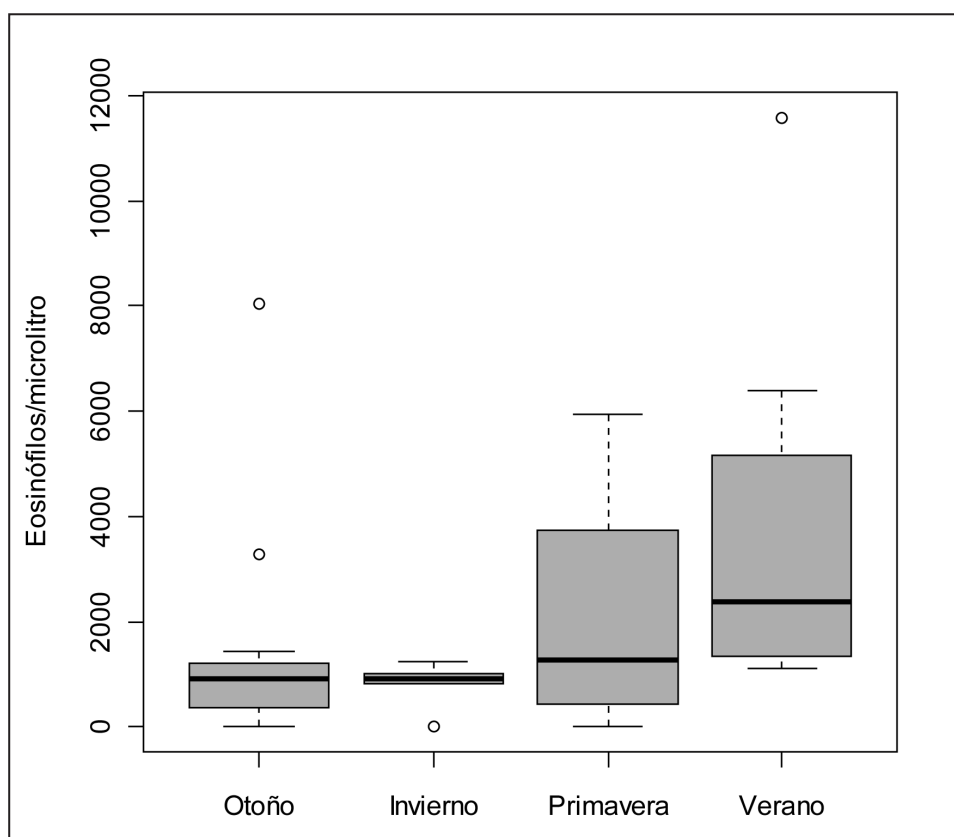


Figura 4. Variación en los niveles de eosinófilos en relación con la estacionalidad anual. Los niveles de eosinófilos durante el verano fueron marcadamente mayores en relación a las restantes estaciones.

y felinos, a un aumento del fibrinógeno en casos de inflamación, o a un error en la técnica¹².

CONCLUSIÓN

Es necesario continuar con estos estudios a lo largo de sucesivos años para echar luz sobre la causalidad de estas asociaciones, generando un tamaño de muestreo mayor. Esto facilitaría establecer cuáles son los factores que determinan que los recuentos de neutrófilos sean mayores para hembras que para machos, como así también que los eosinófilos se encontraran marcadamente superiores en relación al resto de los leucocitos en temporada estival.

Se hace imperioso corroborar si los datos obtenidos son intrínsecos de las poblaciones estudiadas o si se repite en otras, es decir, si solo son muestra del estado de salud de una población determinada en un momento determinado modificable por diversas variables, o si indefectiblemente estas situaciones se repiten consistentemente en otras poblaciones y situaciones. La falta de estudios previos relacionados a parámetros hematológicos en poblaciones de *D. albiventris* en Argentina deja un camino abierto a futuras investigaciones para profundizar el presente trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A Dr. Alejandro Abdala por su colaboración con el material de muestreo. A la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV-UNL). A Ayelen Eberhardt, Georgina Tumini, Leandro Antoniazzi, Sebastian Albarado, Nicolas Welschen, Ivana Nadal, Mateo Rochi, Federico Pighin, Carolina Magni, Sebastian Iparragirre y a todos los que forman parte del grupo de estudio dirigido "CAPIBARA" por su colaboración en las tareas de campo. A Nicolás Schweigmann por facilitar material bibliográfico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akaike, H. A new look at the statistical model identification. IEEE. *Transactions on Automatic Control*. 1974; AC-19: 716-723.

2. Barquez, R; Díaz, M & Ojeda, R. Mamíferos de Argentina, Sistemática y Distribución. *Sarem*. Tucuman. 2006; 358p.
3. Beldomenico, P.M, Telfer, S., Gebert, S., Lukomski, L., Bennett, M. & Begon, M. The dynamics of health in wild field vole populations: a haematological perspective. *Journal of Animal Ecology*. 2008; 77: 984-997.
4. Briggs, E. A. The red blood corpuscles of primitive mammals. *Nature*. 1936; 138: 762.
5. Casagrande, R. & Oliveira Cesar, M. Perfil hematológico de gambás *Didelphis aurita* e *D. albiventris* do Estado de Sao Paulo, Brazil.; *Acta Scientiarum Biological Sciences*, Maringá. 2009; 31(2): 185-189.
6. Casagrande, R. Isolamento de Salmonella enterica em gambás (*Didelphis aurita* e *Didelphis albiventris*) do Estado de São Paulo, Brasil. *Cienc. Rural*. 2011; 41 (3): 492-496.
7. De La Vega, E. & García Carrillo, C. Infección natural por Brucella en comadrejas (*Didelphis marsupialis*) en la republica Argentina. *Red. Med. Vet. Bs As*. 1979; 60 (5): 283-286.
8. Exner, E., D'Angelo, C. H & J. F, Pensiero. Vegetación y Flora de la Reserva Universitaria de la Escuela Granja de Esperanza. *Revista FAV/E de Cs. Agrarias*. 2005; 3(1-2): 52-63.
9. Feldman, B.F, Zinkl, J.G. & Jain, N.C. *Schalm's Veterinary Hematology*. Williams & Wilkins, Philadelphia. 2006; 200 p.
10. Meyer, D & Harvey, J. Evaluación de las anormalidades leucocitarias (89-115). *El laboratorio en medicina veterinaria: interpretacion y diagnostico*. Inter-medica. Buenos Aires. 2000; 397 p.
11. Nilton, C., Caceres, E. & L. A. Monteiro. Food Habits, Home Range and Activity of *Didelphis aurita* (Mammalia, Marsupialia) in a Forest Fragment of Southern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. 2001; 36: 85 - 92.
12. Phillip, C. *Haematology of Australian Mammals*. 2º.Ed, CSIRO. Australia. 2004; 250 pp.

13. Schweigmann NJ. Aspectos ecológicos de una población santiagueña de la comadreja overa (*Didelphis albiventris*) en relación con la transmisión del *Trypanosoma cruzi* [tesis doctoral]. Buenos Aires: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. 1994.
14. Schweigmann, N., S. Pietrokovsky & V. Bottazzi. Estudio de la prevalencia de la infección por tripanosoma cruzi en *Didelphis albiventris* en Santiago del Estero, Argentina. *Revista Panamericana Salud Publica*. 1999; 6 (6): 371-377.
15. Tizard, I.R. *Veterinary Immunology. An Introduction*. Saunders, Philadelphia. 2004; 517p.
16. Travi, B.L; Jaramillo, C.; Montoya, J; et al. *Didelphis marsupialis*, an Important Reservoir of *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* and *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* in Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 1994; 50(5): 557-565.
17. Wayne, C. P. Eosinophils and Population Density in the Marsupial *Setonix*. *Journal of Mammalogy*. 1968; 49 (1): 124-126.
18. Wicks, R M & Clark, E P. Clinical haematology of the southern brown bandicoot (*Isodon obesulus*). *Comp Clin Path*. 2005; 14: 56-60.
19. Yai, L. E. O. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* Antibodies in the South American Opossum (*Didelphis marsupialis*) From the City of Sao Paulo, Brazil. *The Journal of Parasitology*. 2003; 89 (4): 870-871.

