

COMUNICACIÓN

**Resultados preliminares de valores hematológicos en una población silvestre de *Spheniscus humboldti* en el sur de Perú**

**PRELIMINARY RESULTS OF HEMATOLOGICAL VALUES FOR WILD POPULATION OF *Spheniscus humboldti* IN SOUTHERN PERU**

Tania Suarez-Yana<sup>1,4</sup>, Joanna Alfaro-Shigueto<sup>1,2,3</sup>

RESUMEN

El objetivo de este reporte fue presentar datos sobre el perfil hematológico del pingüino de Humboldt (*Spheniscus humboldti*) en Punta Coles, Perú. Se realizaron evaluaciones sanitarias en las que se establecieron valores de hematocrito, recuento de leucocitos y fórmula leucocitaria en cuatro individuos. La sangre (5 ml) se extrajo mediante punción yugular. Los resultados fueron: hematocrito  $44.5 \pm 4.12\%$ , recuento de glóbulos blancos  $17.25 \pm 4.57 \times 10^3/\mu\text{l}$ , heterófilos  $9.85 \pm 1.91 \times 10^3/\mu\text{l}$ , linfocitos  $3.7 \pm 0.51 \times 10^3/\mu\text{l}$ , monocitos  $1.52 \pm 0.99 \times 10^3/\mu\text{l}$  y eosinófilos  $1.3 \pm 0.51 \times 10^3/\mu\text{l}$ . Los linfocitos presentaron valores más bajos que otras poblaciones silvestres y en cautiverio de *S. humboldti*.

**Palabras clave:** pingüino; Humboldt; hematología; Perú

ABSTRACT

The objective of this report was to present data on the hematological profile of the Humboldt penguin (*Spheniscus humboldti*) in Punta Coles, Peru. Values of hematocrit, white blood cell count and leukocyte formula were determined in four individuals. Blood samples (5 ml) were extracted by jugular puncture. The results were: hematocrit  $44.5 \pm 4.12\%$ , white blood cell count  $17.25 \pm 4.57 \times 10^3/\mu\text{l}$ , heterophiles  $9.85 \pm 1.91 \times 10^3/\mu\text{l}$ ,

<sup>1</sup> ProDelphinus, Lima, Perú

<sup>2</sup> School of Biosciences, Cornwall Campus, University of Exeter, Reino Unido

<sup>3</sup> Facultad de Biología Marina, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú

<sup>4</sup> E-mail: tania-suarez@prodelphinusperu.com

Recibido: 2 de agosto de 2017

Aceptado para publicación: 6 de diciembre de 2017

lymphocytes  $3.7 \pm 0.51 \times 10^3/\mu\text{l}$ , monocytes  $1.52 \pm 0.99 \times 10^3/\mu\text{l}$ , eosinophils  $1.3 \pm 0.51 \times 10^3/\mu\text{l}$ . The lymphocytes showed lower values than other wild and captive populations of *S. humboldti*.

**Key words:** penguin; Humboldt; hematology; Peru

## INTRODUCCIÓN

El pingüino de Humboldt (*Spheniscus humboldti*) se encuentra distribuido a lo largo de la costa de Perú y Chile, desde la isla Foca (Perú,  $05^\circ 12' \text{ S}$ ) hasta Isla Metalqui (Chile,  $42^\circ 12' \text{ S}$ ) (Zavalaga y Alfaro-Shigueto, 2015). Censos de sus poblaciones en el Perú realizados en fechas posteriores al fenómeno El Niño de 1997-1998 indicaron una reducción de 5500 a 4425 individuos de *S. humboldti* (Paredes *et al.*, 2003). Desde entonces, las colonias se han ido modificando, probablemente debido al desarrollo antropogénico en la zona costera, incluyendo las pesquerías (Paredes *et al.*, 2003). Es así que en 2014 se ha estimado una población entre 37 000 y 60 000 aves en las 73 colonias de Perú y Chile (Zavalaga y Alfaro-Shigueto, 2015). Una de las últimas colonias de *S. humboldti* dentro de los límites de la Reserva Nacional de Islas, Islotes y Puntas Guaneras es la de Punta Coles ( $17^\circ 42' \text{ S}$ ,  $71^\circ 22' \text{ W}$ ), la cual incluye cerca de 225 individuos con tendencia significativa a la reducción (McGill y Tieber, 2015).

Esta especie está clasificada como En Peligro por el Decreto Supremo N.º 004-2014-MINAGRI y como Vulnerable por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, así como en el Apéndice I de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestre (El Peruano, 2014; Birdlife International, 2017). Entre las principales amenazas de la especie se incluyen la extracción de guano que perturba su éxito reproductivo, la captura incidental y el turismo no sostenible (Zavalaga y Alfaro-Shigueto, 2015).

La información sobre la salud de poblaciones de pingüinos de Humboldt en el Perú es limitada. Herramientas como los análisis hematológicos pueden ser útiles para evaluar los estados de salud de las aves en cautiverio y en vida silvestre (Moreno-Salas *et al.*, 2014); sin embargo, la información publicada sobre hematología del pingüino de Humboldt en vida libre en Perú es escasa (Smith *et al.*, 2008). Por lo tanto, este estudio busca obtener datos hematológicos de la población de *S. humboldti* en Punta Coles, así como comparar los resultados con poblaciones similares y de otras especies de pingüinos en vida libre y en cautiverio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Cinco pingüinos de Humboldt fueron capturados en Punta Coles, en la costa de la provincia de Ilo, departamento de Moquegua, Perú. Las aves fueron retenidas manualmente durante un máximo de 10 minutos para el examen clínico y colecta de sangre. Se verificó que estuvieran debidamente hidratados, con buena condición corporal y de alas, comportamiento alerta y sin cojeras (Grisolle, 2007). La condición corporal se midió en una escala del 1 al 5, según la propuesta de Clements y Sánchez (2015).

El muestreo se realizó entre septiembre y noviembre de 2013, que es la temporada de anidación. La sangre fue colectada de la vena yugular con una jeringa de 5 ml y aguja 20 G, donde el manipulador está sentado e inmovilizando las alas y el cuerpo del pingüino, ambos mirando hacia la misma dirección (Grisolle, 2007). Se tomaron medidas de lar-

go de pico (LP; cm) para determinar el sexo empleando la fórmula  $D = -6.31 + LP$ , considerando macho si  $D > 0$ , hembra si  $D < 0$  y no determinado si  $D = 0$  (Zavalaga y Paredes, 1997).

La sangre se transfirió rápidamente a tubos Vacutainer® de heparina litio y las muestras fueron conservadas a 4 °C. Se realizaron frotis sanguíneos con una gota de sangre fresca y fueron secados al aire, teñidos con Wright y observados al microscopio para la detección directa de hemoparásitos acorde a su morfología (Vanstreels *et al.*, 2016). El hematocrito se determinó con el método del microhematocrito utilizando una microcentrifuga Fisher Scientific. En el recuento de glóbulos blancos se empleó la fórmula  $\#Células \mu l = (\text{promedio} \# \text{ de células por campo}) \times (\text{aumento de objetivo})^2$ , contando hasta 200 leucocitos por individuo (Strik *et al.*, 2007).

Se calculó la media aritmética como medida de tendencia central, la desviación estándar como medida de dispersión y el intervalo de confianza (rango mínimo y máximo) para cada parámetro hematológico. No se realizaron pruebas estadísticas comparativas de sexo debido al número reducido de muestras.

## RESULTADOS

Los pingüinos estaban cuidando a sus crías al momento de la captura. La condición corporal fue de 3.6 en promedio. La habilidad de caminata, así como reflejos oculares y cloacales fueron adecuados. No hubo presencia de ectoparásitos. Las aves capturadas correspondieron a dos machos y tres hembras adultas. Solo se pudo extraer sangre a cuatro de las cinco aves (un macho y tres hembras) por dificultad en la exposición de la vena. No se encontraron hemoparásitos en los frotis examinados.

Los valores hematológicos encontrados en los cuatro pingüinos de Humboldt, así como datos comparativos con esta y otras especies de pingüinos tomados de otros estudios se muestran en el Cuadro 1.

## DISCUSIÓN

El bajo número de muestras impide tomar los valores obtenidos en este estudio como los intervalos de referencia para esta colonia; sin embargo, esta investigación representa un esfuerzo de muestreo, dadas las dificultades de acceso a individuos (e.g. anidación en peñas o en zonas rocosas, interferencia de otras especies de aves guaneras). Por otro lado, se necesitaría un mínimo de 30 individuos según el Teorema de Límite Central (Salkind *et al.*, 1998) o hasta 120 muestras para establecer intervalos de referencia para el 95% de la población (Geffre *et al.*, 2009). No obstante, el estudio ayuda a identificar potenciales estrategias para futuras metodologías y brindar una revisión general de la salud poblacional de pingüinos de Humboldt de Punta Coles.

El valor promedio del hematocrito fue 5% menor que el valor determinado por Smith *et al.* (2008) en Punta San Juan en Ica, Perú y 10% menor que individuos en cautiverio en Lima (Grisolle, 2007); sin embargo, hay coincidencia con los rangos encontrados para el caso de *S. humboldti* en Atacama, Chile (Moreno-Salas *et al.*, 2014), de *Spheniscus mendiculus* en las Islas Galápagos (Travis *et al.*, 2006) y de *Spheniscus magellanicus* en las Islas Malvinas (Hawkey *et al.* 1989).

El promedio de recuento de glóbulos blancos fue 25% mayor que el hallado en la población silvestre de Punta San Juan (Smith *et al.*, 2008) y 70% menor comparándolo con la población en cautiverio de Lima (Grisolle, 2007), lo cual pudo deberse al tipo de manejo en las condiciones de cautiverio. Un comportamiento similar es observado en los

Cuadro 1. Valores hematológicos absolutos y relativos de *Spheniscus humboldti* adultos en Punta Coles (n=4) con valores promedio comparativos de la especie en vida libre en Punta San Juan, Ica (n=84) y en Atacama, Chile (n=21), así como del pingüino de las Galápagos (*S. mendiculus*) (n=83) y del pingüino de Magallanes (*S. magellanicus*) (n=12)

Variable	<i>S. humboldti</i>				<i>S. mendiculus</i> <sup>3</sup>	<i>S. magellanicus</i> <sup>4</sup>
	Puntas Coles		Punta San Juan <sup>1</sup>	Chile <sup>2</sup>		
	Promedio ± d.e.	Rango				
Hematocrito (%)	44.5 ± 4.12	40-48	47.2	43	44.1	42
Leucocitos (10 <sup>3</sup> /μl)	17.25 ± 4.6	14-24	12.86	8.36	-	-
Heterófilo (10 <sup>3</sup> /μl)	9.85 ± 1.91	8.19-12.6	-	5.6	-	-
Linfocito (10 <sup>3</sup> /μl)	3.7 ± 0.51	3.0-4.1	-	1.8	-	-
Monocito (10 <sup>3</sup> /μl)	1.52 ± 0.99	0.75-2.88	-	0.32	-	-
Eosinófilo (10 <sup>3</sup> /μl)	1.3 ± 0.51	0.68-1.92	-	0.47	-	-
Basófilo (10 <sup>3</sup> /μl)	0	0	-	0.005	-	-
Heterófilo (%)	57.8 ± 3.7	52.5-61.0	45.6	-	57.6	32
Linfocito (%)	22.1 ± 4.1	17.5-26.5	47.3	-	31.5	60
Monocito (%)	8.3 ± 3.3	5-12	3.2	-	2.4	1.2
Eosinófilo (%)	7.6 ± 2.3	4.3-9.0	3.6	-	8	6.4
Basófilo (%)	0	0	0	-	0.4	0.1

<sup>1</sup> Smith *et al.* (2008); <sup>2</sup> Moreno-Salas *et al.* (2014); <sup>3</sup> Travis *et al.* (2006), <sup>4</sup> Hawkey *et al.* (1989)

heterófilos con 21 y 43% más elevados que aquellos en las poblaciones de Punta San Juan en Ica y Atacama en Chile, respectivamente (Smith *et al.*, 2008; Moreno-Salas *et al.*, 2014). Sin embargo, el rango del presente estudio se encuentra dentro del intervalo reportado para la población silvestre del ex-Isote de los Pájaros Niños en Chile (Wallace *et al.*, 1995).

El valor promedio de los linfocitos fue más bajo para las poblaciones silvestres que aquellas en cautiverio de Perú (Grisolle, 2007) y Chile (Moreno-Salas *et al.*, 2014); no obstante, el rango se encuentra dentro de los rangos publicados (Wallace *et al.*, 1995; Grisolle Zolezzi, 2007; Smith *et al.*, 2008; Moreno-Salas *et al.*, 2014). Según Moreno-Salas *et al.* (2014), los pingüinos silvestres tenían

mayor cantidad de linfocitos que los cautivos por la alta probabilidad de exposición a antígenos, aunque Smith *et al.* (2008) encontró títulos negativos para diferentes antígenos, incluyendo influenza aviar y *Aspergillus* sp en la población silvestre de Punta San Juan. Por otro lado, el reducido número de muestras de este estudio no permite mayores comparaciones con los resultados de otros estudios.

El rango de valores hallados para los monocitos fue similar a otros estudios (Cuadro 1); sin embargo, es superior al valor registrado en ISIS (2002) para la especie. Los monocitos en aves están relacionados a los procesos inflamatorios y tienen un rol inmunológico en el proceso antigénico (Campbell y Ellis, 2007). En este estudio un individuo presentó una monocitosis elevada, afectando el promedio del grupo.

Los valores de eosinófilos fueron similares a los hallados por Wallace *et al.* (1995) para *S. humboldti* y por Travis *et al.* (2006) para *S. mendiculus*. Cabe resaltar que Smith *et al.* (2008) encuentran valores muy por debajo de los resultados de este estudio. Este tipo de células están relacionadas al parasitismo (Wallace *et al.*, 1995), por lo que su número puede encontrarse elevado en determinadas poblaciones silvestres.

### Agradecimiento

Los autores agradecen a SERNANP por los permisos obtenidos para desarrollar la investigación, a los guardaislas de AGRORURAL por la asistencia recibida en campo, a Wildlife Conservation Society - Perú por las facilidades prestadas en sus instalaciones para las lecturas de los frotis sanguíneos; a F. Bernedo, P. Hofmann y A. Luna por su valiosa asistencia en campo, y a Darwin Initiative, Whitley Fund for Nature y Columbus Zoo por los fondos asignados para la investigación.

### LITERATURA CITADA

1. **BirdLife International. 2017.** Humboldt penguin *Spheniscus humboldti*. [Internet]. Available in: <http://datazone.birdlife.org/species/factsheet/humboldt-penguin-spheniscus-humboldt>
2. **Campbell TW, Ellis CK. 2007.** Avian & exotic animal hematology and cytology. 3<sup>rd</sup> ed. Ames, Iowa: Blackwell Publishing. 287 p.
3. **Clements J, Sánchez JN. 2015.** Creation and validation of a novel body condition scoring method for the Magellanic penguin (*Spheniscus Magellanicus*) in the zoo setting. Zoo Biol 34: 538-46. doi: 10.1002/zoo.21241
4. **El Peruano. 2014.** Normas legales. Lista de clasificación y categorización de las especies amenazadas de fauna silvestre legalmente protegidas. Decreto Supremo N° 004-2014-MIGAGRI.
5. **Geffre A, Friedrichs K, Harr K, Concordet D, Trumel C, Braun JP. 2009.** Reference values: a review. Vet Clin Pathol 38: 288-298. doi: 10.1111/j.1939-165X.2009.00179.x
6. **Grisolle M. 2007.** Valores hematológicos en pingüinos de Humboldt (*Spheniscus humboldti*) mantenidos en cautiverio en la Costa Central del Perú. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Univ Peruana Cayetano Heredia. 21 p.
7. **Hawkey CM, Horsley DT, Keymer IF. 1989.** Haematology of wild penguins (Sphenisciformes) in the Falkland Islands. Avian Pathol 18: 495-502. doi: 10.1080/03079458908418621
8. **[ISIS] International Species Information System. 2002.** Reference ranges for physiological data values of Humboldt penguin (*Spheniscus humboldti*), USA. [Internet]. Available in: <https://www.species360.org>

9. **McGill P, Tieber A. 2015.** Census of Humboldt penguins at major sites in Peru, 2015. Chicago: Chicago Zoological Society. 31 p.
10. **Moreno-Salas L, Nilsson-Saéz L, Corvalán F, Ardiles-Villegas K, Merino-Muñoz V, Islas-Letelier A, González-Acuña D. 2014.** Comparación de los valores hematológicos y bioquímicos en pingüinos *Spheniscus humboldti* (Sphenisciformes: Spheniscidae) silvestres y en cautiverio. *Rev Cient FCV-LUZ* 24: 267-271.
11. **Paredes R, Zavalaga CB, Battistini G, Majluf P, McGill P. 2003.** Status of the Humboldt penguin in Peru, 1999-2000. *Waterbirds* 26: 129-138. doi: 10.1675/1524-4695(2003)026-[0129:SOTHPI]2.0.CO;2
12. **Salkind NJ, Escalona RL, Valdés SV. 1998.** Métodos de investigación. México: Prentice Hall. 400 p.
13. **Smith MS, Karesh WB, Majluf P, Paredes R, Zavalaga C, Reul AH, Stetter M, et al. 2008.** Health evaluation of free-ranging Humboldt penguins (*Spheniscus humboldti*) in Peru. *Avian Dis* 52: 130-135. doi: 10.1637/8265-071007-Reg
14. **Strik NI, Alleman AR, Harr KE. 2007.** Circulating inflammatory cells. In: Jacobson E (ed). *Infectious diseases and pathology of reptiles: color atlas and text*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. p 167-218.
15. **Travis EK, Vargas FH, Merkel J, Gottdenker N, Miller RE, Parker PG 2006.** Hematology, serum chemistry, and serology of Galápagos penguins (*Spheniscus mendiculus*) in the Galápagos Islands, Ecuador. *J Wildl Dis* 42: 625-632. doi: 10.7589/0090-3558-42.3.625
16. **Vanstreels RE, Braga EM, Catão-Dias JL. 2016.** Blood parasites of penguins: a critical review. *Parasitology* 143: 931-956. doi: 10.1017/S0031182016000251
17. **Wallace RS, Teare JA, Diebold E, Michaels M, Willis MJ. 1995.** Hematology and plasma chemistry values in free-ranging Humboldt penguins (*Spheniscus humboldti*) in Chile. *Zoobiol* 14: 311-316. doi: 10.1002/zoo.1430140403
18. **Zavalaga CB, Alfaro-Shigueto J. 2015.** Unveiling an important Humboldt penguin (*Spheniscus humboldti*) breeding colony in Perú and the need for its protection against the potential impact of guano harvest. *Waterbirds* 38: 302-307. doi: 10.1675/063.038.0311
19. **Zavalaga CB, Paredes R. 1997.** Sex determination of adult Humboldt penguins using morphometric characters. *J Field Ornithol* 68:102-112.