

PROTOCOLO DE NECROPSIA Y TOMA DE MUESTRAS DE CETÁCEOS



Documento técnico realizado por:

Centro Atlántico de Investigación de Cetáceos (C.A.I.C.)

Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria (IUSA)

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC)



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Instituto Universitario de Sanidad Animal
y Seguridad Alimentaria



Interreg

Fondo Europeo de Desarrollo Regional



EUROPEAN UNION



AUTORES

Jesús De la Fuente, Antonio Fernández, Cristian Suárez, Eva Sierra, Francesco Consoli, Idaira Felipe, Josué Díaz, Marina Arregui, Miguel Rivero, Nakita Câmara, Natalia García, Pablo Díaz, Pedro Herráez, Raquel Puig, Silvia Gimeno, Simona Sacchini, Simone Segura, Tania Ramírez, Yara Bernaldo de Quirós, Manuel Arbelo (Centro Atlántico de Investigación de Cetáceos; Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria; Universidad de Las Palmas de Gran Canaria).

COLABORADORES

Anna M^a Rambaldi, Antonio Espinosa, Diego Llinás, José Ángel Santiago, M^a José Caballero, Marisa Andrada, Óscar Quesada

COFINANCIADO POR



En el marco del Proyecto MARCET *"Red Macaronésica de Transferencia de Conocimientos y Tecnologías Interregional y Multidisciplinar para proteger, vigilar y monitorizar los cetáceos y el medio marino, y analizar y explotar de forma sostenible la actividad turística asociada"* (MAC//1.1b/149). Primera Convocatoria del Programa Interreg-MAC 2014–2020, Fondos FEDER- UE.

Tabla de contenidos:

A. PROTOCOLO DE NECROPSIA	1
A.1- EXAMEN EXTERNO	1
A.1.1.- DETERMINACIÓN DEL SEXO	1
A.1.2.- CONDICIÓN CORPORAL	2
A.1.3.- RANGO DE EDAD	4
A.1.4.- GRADO DE DESCOMPOSICIÓN	5
A.1.5.- LESIONES EXTERNAS	8
A.2.- EXAMEN INTERNO	8
A.2.1.- OMBLIGO Y CORDÓN UMBILICAL	8
A.2.2.- PIEL Y SUBCUTÁNEO	8
A.2.3.- MUSCULATURA DORSAL	10
A.2.4.- ESCÁPULA Y LINFONODO PREESCAPULAR	10
A.2.5.- APERTURA Y EXAMEN DE LA CAVIDAD ABDOMINAL	11
A.2.6.- APERTURA Y EXAMEN DE LA CAVIDAD TORÁCICA	12
A.2.7.- SACO PERICÁRDICO	12
A.2.8.- APERTURA DE LA REGIÓN BUCO-CERVICAL Y EXTRACCIÓN DE LENGUA, ÓRGANOS CERVICALES Y TORÁCICOS	13
A.2.9.- DIAFRAGMA	18
A.2.10.- EXTRACCIÓN DE ÓRGANOS ABDOMINALES	18
A.2.11.- APERTURA, EXAMEN Y EXTRACCIÓN DE ÓRGANOS DE LA CAVIDAD CRANEAL	26
A.3.- OTRAS CONSIDERACIONES	30
A.3.1.- PARÁSITOS	30
A.3.2.- GASES	31

B. PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS	33
B.1- HISTOPATOLOGÍA	33
B.2.- MICROBIOLOGÍA	35
B.3.- TOXICOLOGÍA	36
B.4.- PARASITOLOGÍA	36
B.5.- BIOQUÍMICA	36
B.6.- HISTORIA DE VIDA	37
B.6.1.- EDAD	37
B.6.2.- DIETA	37
B.6.3.- GENÉTICA	37
B.6.4.- ESTADO REPRODUCTIVO	37
B.7.- GASES	38
C. LISTADO ESTANDARIZADO DE MUESTRAS	38
D. GLOSARIO DE TÉRMINOS	42

PROTOCOLO DE NECROPSIA Y TOMA DE MUESTRAS DE CETÁCEOS

Para garantizar el menor número de errores posible y no olvidar nada es recomendable establecer una rutina de disección, posicionando el animal siempre de la misma manera, así como recoger los datos y las muestras en el mismo orden. En la medida de lo posible, el animal se situará apoyado sobre su lado derecho, de modo que la apertura se realice por su lateral izquierdo.

Todas las observaciones deben ser documentadas y descritas (forma, tamaño, color, consistencia, etc.). En cuanto al tamaño se pueden proporcionar medidas para describir e incluir una regla en la fotografía. Palabras como "grande", "pequeño", etc. deben ser evitadas.

En cuanto al muestreo, se recogerán, de manera estandarizada, las muestras que aparecen mencionadas en el protocolo de necropsia y de toma de muestras presentado a continuación. Sin olvidar que, además, deberán tomarse muestras, para su estudio histopatológico y/o microbiológico, de aquellas lesiones, fluidos, etc. que el personal técnico veterinario especializado responsable de la necropsia considere oportuno para un mayor entendimiento de las posibles causas de varamiento y/o muerte de los animales, así como valorar, en la medida de lo posible, el estado sanitario de las poblaciones de origen.

Por tanto, la recolección de estas muestras, de una manera estandarizada y por un personal con formación especializada, es una condición indispensable para poder realizar los estudios mínimos e imprescindibles que permitan conocer el estado en el que se encuentran las poblaciones de cetáceos, y así implementar las acciones necesarias para alcanzar y mantener el buen estado ambiental de las mismas, tal y como contemplan la Directiva marco sobre la estrategia marina (Directiva 2008/56/CE).

A.- PROTOCOLO DE NECROPSIA.-

A.1- EXAMEN EXTERNO.-

A.1.1.- DETERMINACIÓN DEL SEXO.-

La determinación del sexo, durante el examen externo, se realiza examinando la línea media ventral del animal. Al igual que ocurre en otros mamíferos, las hembras tienen las aberturas genital y anal muy próximas, ubicadas dentro de una depresión ventral común. En los machos, por el contrario, ambas aberturas se encuentran distanciadas y ubicadas en depresiones ventrales separadas. Otro rasgo diferenciador que puede ayudar en la identificación es la presencia de dos

hendiduras mamarias en las hembras, situadas una a cada lado de la hendidura genital, aunque, dependiendo de la especie, también pueden aparecer en machos.

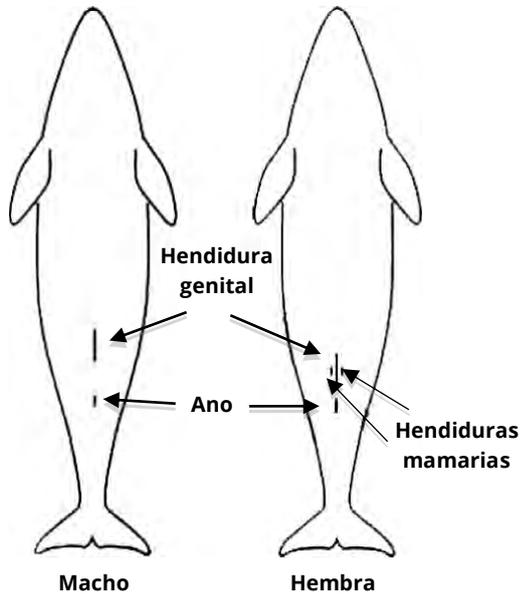


Fig.1: Diferenciación sexual



Fig.2: Macho

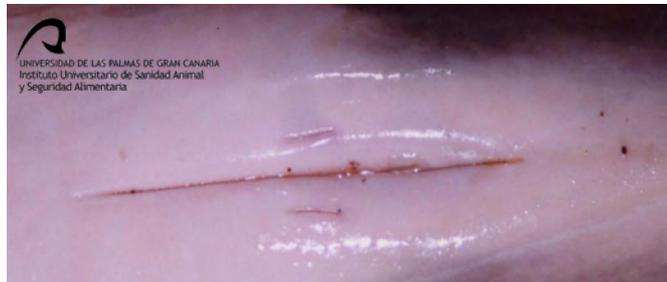


Fig.3: Hembra

A.1.2.- CONDICIÓN CORPORAL.-

La condición corporal, asociada principalmente al estado nutricional de los individuos, puede establecerse, de manera aproximada, mediante una serie de parámetros morfológicos como el perfil anatómico formado por la musculatura dorsal (con cuidado de no confundir cuando el animal está hinchado o retraído por la descomposición), la mayor o menor presencia de ciertas prominencias óseas (especialmente costillas), la cantidad de grasa corporal, la presencia de atrofia serosa de la grasa (grasa gelatinosa y transparente o amarillenta, principalmente en el área torácica craneodorsal, alrededor de los riñones y corazón), etc. Así mismo, a nivel histológico, observaciones como una mayor o menor presencia de atrofia de adipocitos, fibras musculares esqueléticas y/o miocárdicas, atrofia acinosa pancreática, lipofuscinosis en miocardocitos, etc., pueden ayudar a afinar el establecimiento de la condición corporal del individuo necropsiado.

De esta manera, dicha condición corporal puede clasificarse en cuatro categorías:

- **Buena:** musculatura dorsal bien desarrollada, dando un perfil convexo, y una alta proporción de grasa corporal.
- **Moderada:** desarrollo normal de la musculatura dorsal, dando un perfil recto o ligeramente convexo, y presencia moderada de grasa corporal.
- **Pobre:** musculatura dorsal ligeramente deprimida, dando un perfil cóncavo. La grasa corporal puede verse disminuida y puede ser posible reconocer la superficie de las costillas por palpación.
- **Muy pobre:** musculatura dorsal muy deprimida, dando un perfil extremadamente cóncavo. Superficie costal visible, grasa corporal muy reducida o prácticamente inexistente y puede observarse atrofia serosa de la grasa.



Fig.4: C.C. 1. Buena



Fig.5: C.C. 2. Moderada



Fig.6: C.C. 3. Pobre



Fig.7: C.C. 4. Muy pobre

A.1.3.- RANGO DE EDAD.

La catalogación de los animales en un rango de edad aproximado, cuando no existan estudios de determinación específicos (óseos, dientes, etc.), se realiza atendiendo, principalmente, a la longitud total de los mismos, para lo cual se deben considerar los últimos estudios existentes en relación con el patrón de crecimiento de la especie concreta a evaluar, preferentemente aquellos referidos a poblaciones o subpoblaciones de la misma región en la que se produce el varamiento del animal, si los hubiere. Así mismo, se tendrán en cuenta otras observaciones morfológicas que ayuden a afinar la estimación del rango de edad como, por ejemplo, el estado madurativo de los órganos reproductores.

De esta manera, pueden establecerse los siguientes rangos de edad:

- **Neonatos:** animales que, además de tener una longitud total compatible, presentan rasgos indicativos de parto reciente como, por ejemplo, presencia de vibrisas rostrales, restos umbilicales, pliegues fetales marcados, aletas dorsal y caudal plegadas, etc.

- **Crías:** ejemplares cuya longitud total se considera compatible, según la especie, con la edad de un animal lactante (dependiente de la madre). Además, pueden estar presentes rasgos morfológicos que ayuden a su catalogación en este rango de edad como, por ejemplo, presencia de vibrisas o poros pilosos rostrales, restos umbilicales, pliegues fetales más o menos marcados, dentición incompleta, papilas linguales, etc.

- **Juveniles:** rango de edad entre el destete y la madurez sexual, según la especie considerada.

- **Subadultos:** categoría intermedia entre animales juveniles y adultos en la que, por su longitud total, no es posible encuadrarlos inequívocamente en un rango de edad concreto y, además, sus órganos reproductores no han podido ser evaluados macro y microscópicamente.

- **Adultos:** aquellos ejemplares cuya longitud total se considera compatible con individuos sexualmente maduros y/o sus órganos reproductores se consideran histológicamente maduros.

**Fig.8: Papilas linguales****Fig.9: Restos umbilicales**

A.1.4.- GRADO DE DESCOMPOSICIÓN.-

Cuando un animal muere comienzan a producirse cambios en el cuerpo o alteraciones *post mortem* que podrían utilizarse para evaluar el grado de descomposición del animal y la utilidad de los tejidos para la realización de estudios específicos. Estas alteraciones *post mortem* dependen de factores ambientales como la humedad, la temperatura, etc., y otros relacionados con la edad, el tamaño, la existencia de determinados procesos patológicos, la forma de morir, etc. En cetáceos, algunas de las adaptaciones anatómicas que representan una ventaja evolutiva para evitar la pérdida de temperatura del cuerpo son, por el contrario, un inconveniente para mantener la frescura de las carcasas, incrementando su velocidad de descomposición. Por lo general, animales robustos y grandes se descomponen más rápidamente que aquellos más pequeños o delgados. Además, en ocasiones, cadáveres considerablemente descompuestos a nivel interno no muestran grandes cambios externamente. Así pues, es complicado estandarizar de manera exacta un modelo que se adapte a todos los casos, sin embargo algunas señales pueden permitirnos clasificar a los animales, de manera aproximada, en cinco código de conservación en función de su estado de descomposición, aunque tomando con cautela dichas señales, ya que no siempre están presentes o se muestran de la misma manera.

Códigos conservación	Alteraciones <i>post mortem</i>	Condition Code (Kuiken & García Hartmann, 1991)
		1 (live)
1 (Muy fresco)	Piel en buenas condiciones o un poco seca, ojos con consistencia ligeramente disminuida y con córnea algo nublada, boca cerrada o algo abierta y lengua situada en parte posterior de la cavidad oral. En machos, el pene no sobresale. Podrían observarse signos de rigor mortis y pequeñas manchas hipostáticas que desaparecen por digitopresión.	2 (extremely fresh)
2 (Fresco)	Piel seca o parcialmente descamada, lengua ligeramente hinchada, y pene algo visible (sobre todo en crías). Pueden aparecer pequeñas áreas de color rosado o rojizo claro. El blubber es firme y blanco, los órganos se encuentran bien definidos y sin cambios de coloración, pudiéndose encontrar algo de gas a nivel intestinal.	3 (moderate decomposition)
3 (Autolisis moderada)	Piel descamada o ligeramente desprendida, áreas rojizas oscuras de mayor tamaño que pueden unirse entre sí en diferentes puntos, la carcasa se encuentra moderadamente hinchada, siendo más evidente a nivel de lengua, vulva y hendiduras mamarias en hembras, o pene en machos (visible). El color de los órganos es algo más oscuro y su consistencia es ligeramente menor, principalmente a nivel de hígado, páncreas, riñones y cerebro. Intestinos moderadamente dilatados por el gas.	
4 (Autolisis avanzada)	Piel desprendida o ausente, áreas de color oscuro, verdoso o violáceo cubriendo al animal, hinchazón visible de la carcasa con la boca abierta debido al aumento de tamaño de la lengua, puede existir evisceración de órganos abdominales principalmente a través de las áreas genital y/o umbilical. Órganos con una coloración uniforme, de color rojo oscuro y con consistencia disminuida, sobre todo a nivel de hígado, páncreas, riñones y SNC. Intestinos llenos de gas.	4 (advanced decomposition)
5 (Autolisis muy avanzada)	Se observan fenómenos de licuefacción, principalmente a nivel de hígado, páncreas, riñones y SNC. Restos esqueléticos, pudiendo aparecer fenómenos de momificación o adipocira.	5 (indeterminate)



Fig.10: C.C. 1. Muy Fresco



Fig.11: C.C. 2. Fresco



Fig.12: C.C. 3. Autolisis moderada



Fig.13: C.C. 4. Autolisis avanzada



Fig.14: C.C. 5. Autolisis muy avanzada

A.1.5.- LESIONES EXTERNAS.-

El examen externo debe incluir una observación minuciosa tanto de la superficie piel como de las aberturas corporales (ojos, boca, espiráculo, ombligo, hendiduras genitales y mamas, y ano). Fotografiar cualquier observación sospechosa de ser una lesión (marcas, cicatrices, rasguños, cortes, heridas, cambios de color, etc.). En las hembras comprobar si están en periodo de lactancia. Presionar la zona craneal de las hendiduras mamas en dirección caudal, en caso de salir algún tipo de fluido tomar muestras para microbiología, toxicología y bioquímica.

A.2.- EXAMEN INTERNO.-

A.2.1.- OMBLIGO Y CORDÓN UMBILICAL.-

En feto y recién nacidos tomar fotografías y recoger muestras del ombligo y del cordón umbilical para histopatología y microbiología.

A.2.2.- PIEL Y SUBCUTÁNEO.-

Para comenzar se realizarán dos incisiones horizontales a través de la piel hasta el final de la hipodermis (blubber), con cuidado de no perforar más allá. La primera en la parte dorsal del animal (bajo la aleta dorsal) y la otra en la línea media ventral, desde el cuello (antes de aleta

pectoral) hasta detrás del ano. Se harán incisiones verticales adicionales, entre los cortes horizontales, o incluso algunas horizontales más, dependiendo de la longitud y tamaño del cuerpo. Cortar cuidadosamente bajo el blubber y separar la capa de piel de la musculatura subcutánea, abriendo sucesivamente distintas ventanas en la carcasa.



Fig.15: Inicio de la apertura del animal

Aunque la superficie de la piel se haya examinado con anterioridad, deben observarse las diferentes ventanas que se vayan abriendo, incluyendo la grasa hipodérmica, describiendo los posibles cambios de coloración y lesiones que pudieran aparecer. En caso de heridas o hemorragias debe evaluarse la extensión y el grado de penetración de las mismas, describiendo las diferentes capas que se vean afectadas (hipodermis, musculatura, costillas, órganos, etc.). Después de quitar la piel, observar cuidadosamente y tomar fotografías de la zona subcutánea, tanto bajo la grasa hipodérmica como encima de la carcasa.



Fig.16: Inspección del tejido subcutáneo

Extraer una tira de piel longitudinal, desde el inicio de la aleta dorsal (o parte más o menos central del animal) hasta la línea media ventral, y medir el grosor del blubber a nivel dorsal, medio y ventral. Recoger muestras de piel, incluyendo la hipodermis, para histopatología, microbiología, toxicología, genética y dieta.

A.2.3.- MUSCULATURA DORSAL.-

Corresponde a la masa muscular que se extiende a ambos lados de la columna vertebral desde la parte posterior de la cabeza (cresta occipital) al pedúnculo caudal. Examine la superficie del músculo en el cuerpo y retirar con cuidado. Hacer una serie de cortes transversales para examinar más en profundidad la musculatura. Tomar muestras para histopatología, microbiología y toxicología, recomendándose realizar el muestreo estandarizado siempre en la misma zona, a la altura de la aleta dorsal (o parte más o menos central del animal).



Fig.17: Extracción de la musculatura dorsal

A.2.4.- ESCÁPULA Y LINFONODO PRESCAPULAR.-

El linfonodo preescapular es una estructura de forma ovalada a triangular y de color grisáceo que se encuentra justo debajo del borde craneal de la escápula. Retirar por completo la aleta pectoral cortando con cuidado el tejido conectivo y muscular justo debajo de dicha escápula, observándose así más claramente el linfonodo preescapular. Describir, fotografiar y recoger muestras para histopatología y microbiología.

Desarticular con cuidado la articulación escápulo-humeral. Describir y fotografiar.



Fig.18: Linfonodo preescapular



Fig.19: Extracción de la escápula



Fig.20: Inspección de la articulación escápulo-humeral

A.2.5.- APERTURA Y EXAMEN DE LA CAVIDAD ABDOMINAL.-

Para abrir esta cavidad, los músculos abdominales deben ser retirados en sentido caudal desde la última costilla hasta ver el peritoneo. Abrirlo con cuidado de no dañar los órganos o estructuras situadas por debajo. Describir y fotografiar. No retirar ningún órgano o tomar muestras hasta la apertura de la cavidad torácica para evitar su contaminación.



Fig.21: Cavity abdominal tras su apertura

A.2.6.- APERTURA Y EXAMEN DE LA CAVIDAD TORÁCICA.-

Antes de abrir, comprobar la presión intratorácica perforando con una aguja hipodérmica o haciendo una pequeña incisión con un bisturí a través de un espacio intercostal o a nivel de la zona ventrolateral del diafragma. A continuación examinar las costillas por palpación para evaluar la presencia de fracturas. En caso de existir, inspeccione el pulmón después de abrir la cavidad torácica para cualquier evidencia de daño al mismo nivel.

Para abrir la cavidad se debe iniciar en el extremo caudal de la caja torácica, localizando articulación entre cada costilla y las vértebras, así como con el esternón (exceptuando aquellas que sean flotantes). Desarticular con un bisturí o un cuchillo pequeño o, en el caso que no se pretenda conservar el esqueleto, también se pueden cortar usando un costotomo al mismo nivel, siempre con cuidado de no dañar los órganos situados debajo. Describir y fotografiar.

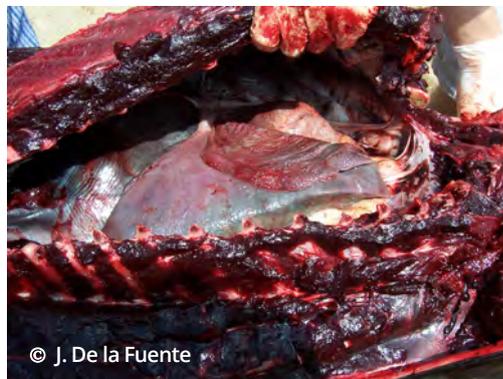


Fig.22: Apertura de la cavidad torácica

A.2.7.- SACO PERICÁRDICO.-

Localice el corazón debajo del área craneoventral del pulmón izquierdo y abrir ligeramente el pericardio. Describir y fotografiar, antes y después de la apertura. Aprovechar este momento para la toma de muestras de gases de vasos coronarios y/o por punción cardíaca, así como para la extracción de sangre para microbiología, toxicología y bioquímica.

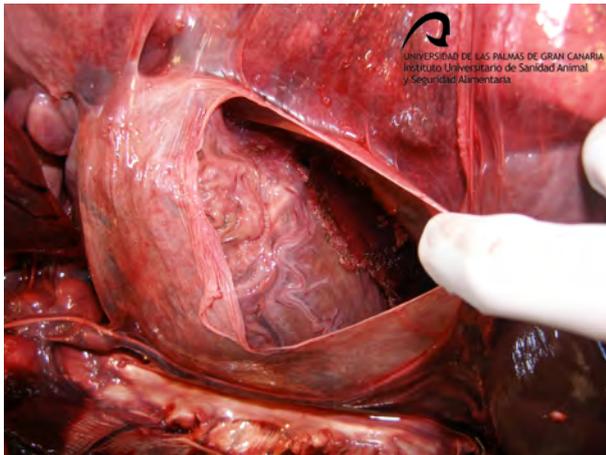


Fig.23: Apertura del saco pericárdico



Fig.24: Toma de muestras in situ (gas / sangre)

A.2.8.- APERTURA DE LA REGIÓN BUCO-CERVICAL Y EXTRACCIÓN DE LENGUA, ÓRGANOS CERVICALES Y TORÁCICOS.-

En primer lugar, localizar la parte final del esófago torácico (entre ambos pulmones) antes de atravesar el diafragma por el hiato esofágico, separar un poco del tejido conectivo que lo sujeta y con un poco de cordel (o bridas) hacer un nudo apretado y seguro alrededor de esta parte del esófago para sellarlo y cortar cranealmente. Además, localice el final de la arteria aorta y de la vena cava caudal justo antes de su paso por el diafragma y cortar para separar.



Fig.25: Aorta torácica



Fig.26: Apertura ventral cavidad bucal

Ahora se debe retirar el aparato cardio-respiratorio y los primeros tramos del aparato digestivo en bloque. Para ello, cortar al nivel de la línea media ventral de la cavidad bucal y abrir cuidadosamente el área entre la boca y el tórax hasta identificar faringe y laringe, así como sus conexiones con esófago y tráquea, respectivamente. En crías y juveniles comprobar también la presencia del timo y, en tal caso, actuar como se describe en el apartado A.2.8.1.

Tomar la lengua y diseccionar caudalmente tirando de ella junto con la faringe, la laringe, el esófago y la tráquea, continuando hacia atrás con los pulmones y el corazón. Diseccionar con el debido cuidado y atención las diferentes estructuras, separándolas de las capas de tejido conectivo que las rodean, y extraer por completo y sin daños.

Después de extraer los órganos torácicos, en bloque, compruebe las costillas del lado derecho por palpación. Si hay fracturas, inspeccione el área correspondiente del pulmón derecho.

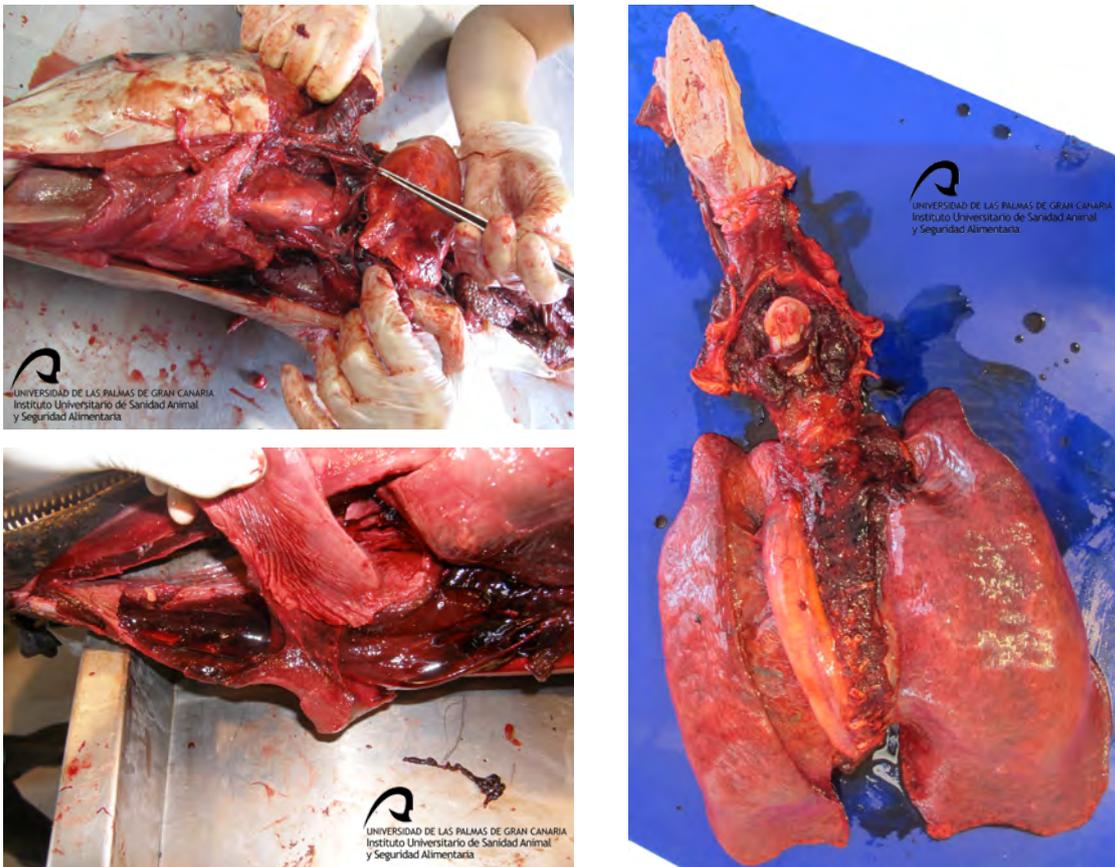


Fig.27: Extracción de aparato cardio-respiratorio y primeros tramos del aparato digestivo

Antes del muestreo, extraer cada órgano por separado, fotografiando y describiendo las observaciones detectadas en cada uno de ellos:

A.2.8.1.- TIMO.-

No siempre presente, sólo en crías y algunos juveniles, situado en la base de la entrada torácica, cranealmente al corazón y al lado de bifurcación traqueal. Describir y fotografiar antes y después de su extracción, así como tras dar varios cortes para observar internamente. Recoger muestras para histopatología y microbiología.



Fig.28: Timo tras extracción

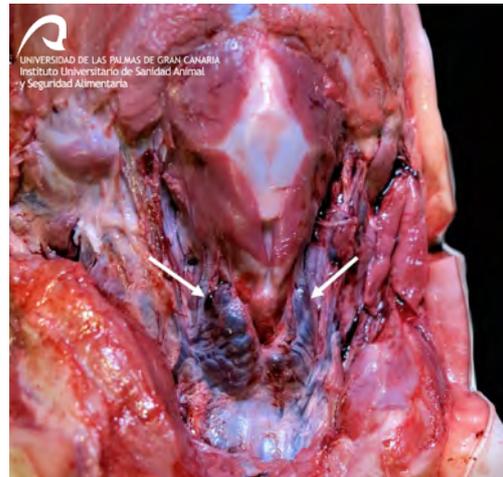


Fig.29: Tiroides

A.2.8.2.- TIROIDES.-

Se encuentra ventrolateralmente en el primer anillo de la tráquea, extendiéndose por el ancho de la misma. Describir y fotografiar, antes y después de su extracción. Tomar muestras para histopatología.

A.2.8.3.- LENGUA, FARINGE Y ESÓFAGO.-

Separar cuidadosamente esta primera parte del sistema digestivo. La lengua ha debido ser valorada durante el examen externo, pero ahora es el momento para tomar fotografías y recolectar muestras para histopatología. Abrir a lo largo de faringe y esófago con tijeras, describir, fotografiar y tomar muestras del área tonsilar faríngea para histopatología y microbiología, así como del esófago para histopatología.



Fig.30: Inspección de los primeros tramos del aparato digestivo

A.2.8.4.- LINFONODOS PULMONARES Y TRAQUEOBRONQUIALES.-

Los linfonodos traqueobronquiales están situados en la serosa, entre la superficie craneoventral de los pulmones y la bifurcación traqueal, siendo más fácil su localización por palpación. Los linfonodos pulmonares se encuentran unidos a los pulmones a nivel caudomedial. Describir y fotografiar antes y después de su extracción, así como tras seccionar longitudinalmente para su inspección. Tomar muestras para histopatología y microbiología.



Fig.31: Linfonodo pulmonar

A.2.8.5.- CORAZÓN.-

Para una mejor inspección de los grandes vasos, no separar el corazón de los pulmones hasta realizar la debida evaluación de los mismos. Posteriormente, abrir la arteria pulmonar in situ y valorar la presencia de émbolos.

Extraer el corazón con el debido cuidado separándolo completamente de los pulmones, para ello cortar a través de las venas pulmonares y de la arteria pulmonar, dejando una sección suficiente de esta última para preservar la integridad valvular. En cuanto a la aorta, mantener íntegramente el tramo torácico (previamente separado del diafragma) unido al corazón. Por último, cortar la vena cava craneal, dejando una sección suficiente para su valoración.

Una vez extraído el corazón, realizar un corte transversal completo justo a la mitad de ambos ventrículos y, posteriormente, seguir realizando cortes transversales paralelos de dichos ventrículos a intervalos de aproximadamente un centímetro hacia el vértice. Inspeccionar y fotografiar las secciones realizadas y valorar el grosor de las paredes ventriculares.

Abrir el resto del corazón siguiendo la dirección del flujo sanguíneo. Cortar a través de las venas cavas abriendo aurícula derecha, continuar por el borde medial del septo auricular, abrir válvula tricúspide y seguir junto al borde del tabique ventricular hasta llegar a la sección transversal previamente realizada. Continuar hacia la válvula pulmonar y cortar a través de ella abriendo la arteria pulmonar. Luego, repetir el procedimiento en corazón izquierdo, abriendo progresivamente desde venas pulmonares hasta la aorta torácica. Describir, fotografiar y tomar muestras para histopatología de ventrículos, aurículas, válvulas (auriculo-ventriculares, aórtica y pulmonar), septo interventricular, troncos pulmonar y aórtico, y aorta torácica.

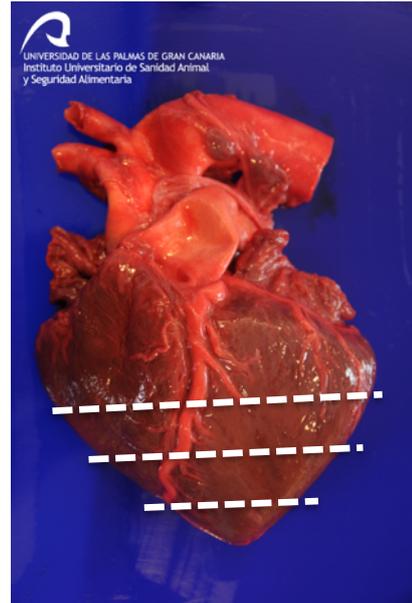


Fig.32: Esquema sección cardiaca

A.2.8.6.- VÍAS RESPIRATORIAS Y PULMONES.-

Describir y fotografiar antes y después de su apertura, la cual se iniciará cortando a lo largo de laringe y tráquea hasta los pulmones, donde se continuará mediante la apertura longitudinal de bronquios y bronquiolos. Posteriormente, hacer varios cortes paralelos en cada pulmón, perpendicularmente a la columna vertebral, para su inspección. Tomar diferentes muestras de ambos pulmones para histopatología, microbiología y toxicología, así como del área tonsilar laríngea para histopatología y microbiología.



Fig.33: Apertura de vías respiratorias



Fig.34: Tonsila laríngea

A.2.9.- DIAFRAGMA.-

Describir, fotografiar y tomar muestras para histopatología.

A.2.10.- EXTRACCIÓN DE ÓRGANOS ABDOMINALES.-

A.2.10.1.- BAZO.-

Órgano de morfología más o menos esférica o aplanada (dependiendo de la especie) que se sitúa en el lado izquierdo del estómago. Extraer, describir y fotografiar antes y después de realizarle uno o varios cortes longitudinales (dependiendo del tamaño) para su inspección. Tomar muestras para histopatología y microbiología.



Fig.35: Bazo

A.2.10.2.- HÍGADO.-

Órgano grande y bilobulado situado junto al diafragma. Separar con cuidado de dicho diafragma y del resto del sistema digestivo, cortando a través del hilio. Describir y fotografiar antes y después de su apertura, la cual se realizará con tijeras a lo largo de los conductos biliares y,

posteriormente, realizando varios cortes longitudinales profundos en ambos lóbulos. Tomar muestras para histopatología, microbiología y toxicología.

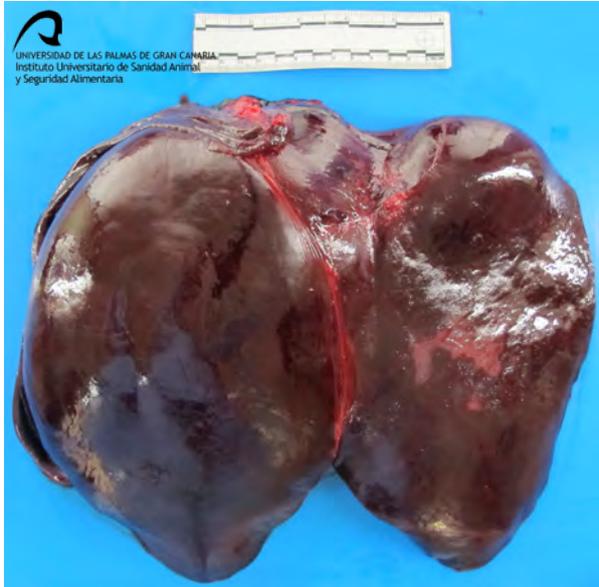


Fig.36: Inspección del hígado

A.2.10.3.- GLÁNDULAS ADRENALES.-

Órganos pares, grisáceos y ovoides, situado cada uno adyacente al borde craneal del riñón de su lado correspondiente. Extraer, describir y fotografiar cada glándula antes y después de abrirlas longitudinalmente para su inspección. Tomar muestras para histopatología (si es posible ambas glándulas completas).



Fig.37: Glándula adrenal

A.2.10.4.- EXTRACCIÓN DEL APARATO GASTROINTESTINAL.-

El esófago fue sellado tras la apertura de la cavidad torácica, ahora se debe hacer lo mismo al final del intestino. Realizar dos ligaduras con un poco de cordel (o bridas) alrededor de esta parte

del intestino para sellarlo, dejando un espacio amplio entre ambas ligaduras, para luego cortar el intestino a nivel de la zona central de dicho espacio. Extraer el paquete gastrointestinal en bloque e inspeccionar separadamente al resto de órganos para evitar su contaminación. Si esto no fuera posible, realizar dicha inspección al final de la necropsia.

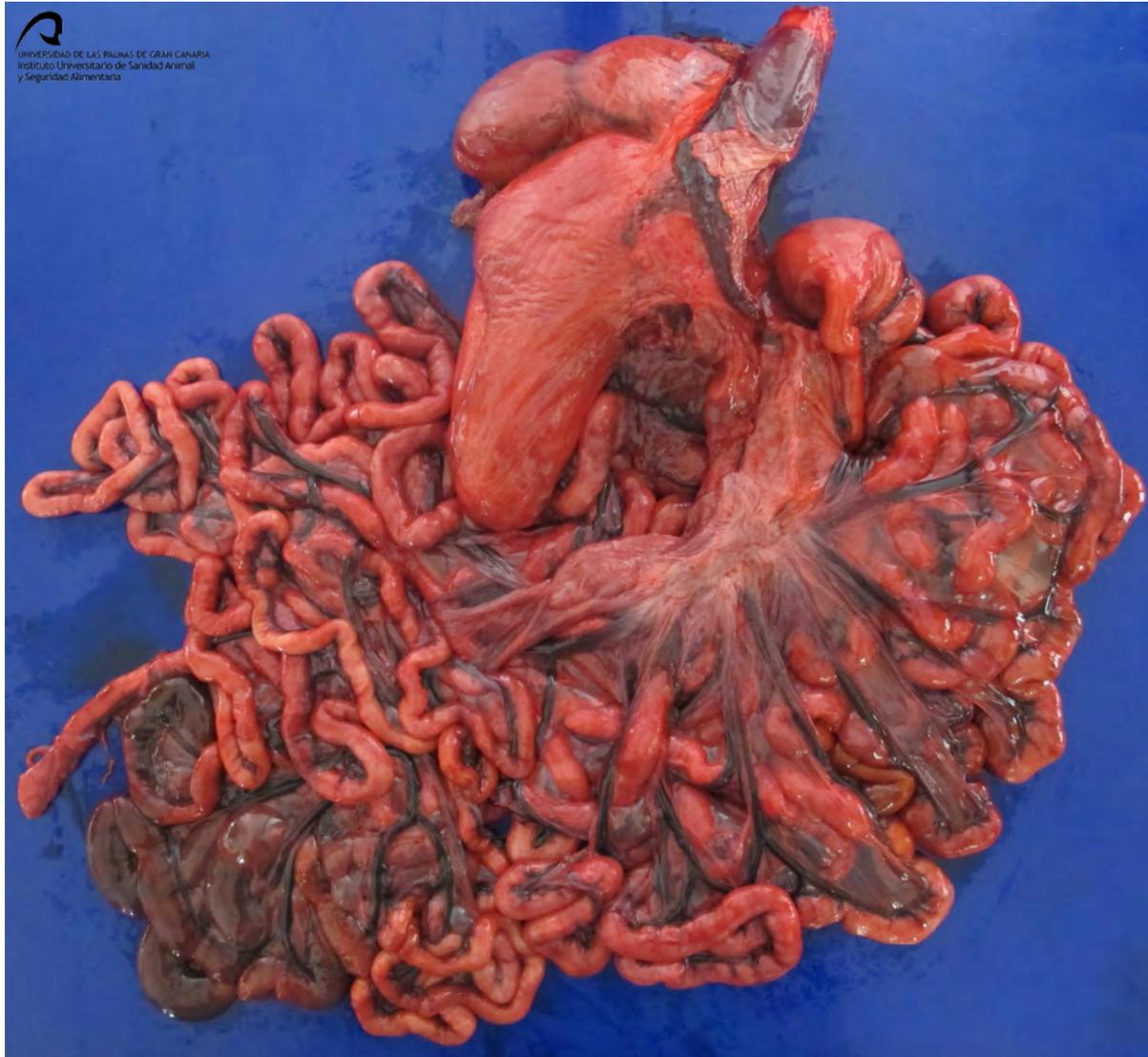


Fig.38: Aparato gastrointestinal tras su extracción

A.2.10.4.1.- PÁNCREAS.-

Órgano compacto que se encuentra adaptado a la primera parte del intestino. Extraerlo separándolo cuidadosamente del mesenterio y cortando a través del conducto pancreático en su desembocadura a nivel de la ampolla duodenal. Describir y fotografiar antes y después de su apertura, la cual se realizará, en primer lugar a lo largo del conducto pancreático y,



Fig.39: Páncreas

posteriormente, mediante varios cortes paralelos profundos para su inspección. Tomar muestras para histopatología y microbiología.

A.2.10.4.2.- ESTÓMAGO Y AMPOLLA DUODENAL.-

El estómago está formado, en la mayoría de las especies, por tres compartimentos: queratinizado, principal y pilórico, continuándose desde aquí con el intestino, cuya primera parte corresponde a la ampolla duodenal. Localizar el final de dicha ampolla y la continuación del resto del intestino, realizar dos ligaduras con un poco de cordel (o bridas) tras la ampolla duodenal, dejando un espacio amplio entre ambas ligaduras, para luego cortar el intestino a nivel de la zona central de dicho espacio. Retirar los tres compartimentos gástricos y la ampolla duodenal en bloque. Describir y fotografiar antes y después de su apertura, la cual se iniciará desde el resto de esófago previo al cardias, abriendo dichos compartimentos gástricos y ampolla duodenal de manera consecutiva.



Fig.40: Estómago y ampolla duodenal

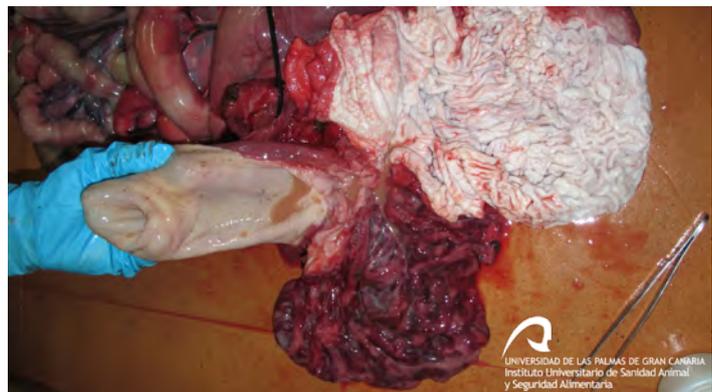


Fig. 41: Compartimentos gástricos tras su apertura

Si se observa contenido alimenticio u otros objetos sólidos, describir, fotografiar y recoger en su totalidad. El contenido alimenticio existente en estómago (y/o en esófago) será recogido como muestra para estudios de dieta. Tomar muestras de cada compartimento para histopatología.

A.2.10.4.3.- MESENTERIO Y LINFONODO MESENTÉRICO.-

Extender el mesenterio, describir y fotografiar. Localizar el linfonodo mesentérico en la zona central del mesenterio. Extraer, describir y fotografiar, antes y después de la apertura longitudinal para su inspección, así como tomar muestras para histopatología y microbiología.



Fig. 42: Linfonodo mesentérico

A.2.10.4.4.- INTESTINO.-

Abrir longitudinalmente en su totalidad o, al menos, diferentes tramos a nivel proximal, medio y distal. Describir, fotografiar y recoger muestras para histopatología y microbiología de las diferentes áreas.



Fig. 43: Inspección de diferentes tramos del intestino

A.2.10.5.- RIÑONES.-

Órganos ovoides y multireniculados, situados dorsalmente en la cavidad abdominal, bajo la columna vertebral. Describir y fotografiar antes y después de su extracción y de su apertura mediante la realización de uno o varios cortes longitudinales (dependiendo del tamaño). Tomar muestras para histopatología, microbiología y toxicología.



Fig.44: Aparato genitourinario (macho)



Fig.45: Riñones

A.2.10.6.- VEJIGA URINARIA

Situada ventrocaudalmente en la cavidad abdominal. En las hembras está localizada unida al mesometrio, por lo que se extraerá conjuntamente con dicho aparato (ver apartado siguiente). Por lo general la vejiga se encuentra vacía y tienen un aspecto rosado y una pared gruesa y muscular, aunque a veces se pueden encontrar distendida y con orina. En este caso, tomar muestras de dicha orina para toxicología, microbiología y bioquímica de modo aséptico con una jeringa estéril antes de extraer el órgano. Tras su extracción, describir y fotografiar antes y después de abrirla longitudinalmente para su inspección. Tomar muestras para histopatología.



Fig.46: Vejiga urinaria tras su apertura

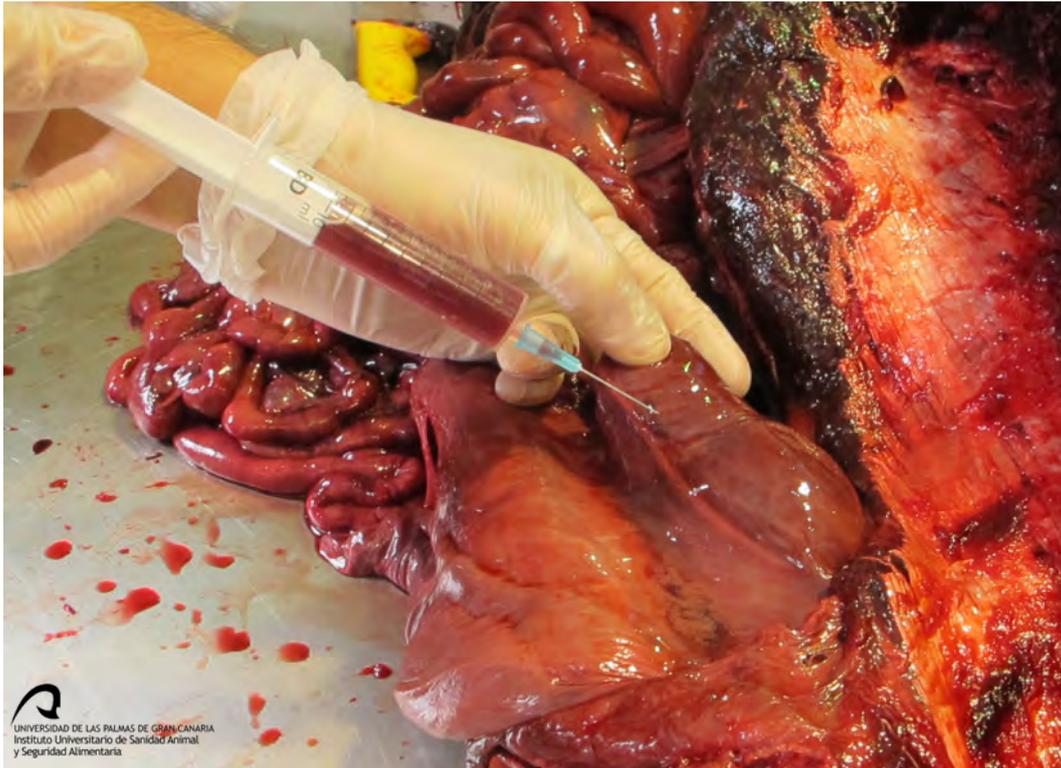


Fig.47: Toma de muestra de orina antes de la extracción de la vejiga

A.2.10.7.- APARATO REPRODUCTOR.-

A.2.10.7.1.- HEMBRA.-

Tomar como referencia la abertura vaginal a través de hendidura genital. Seguir el tracto reproductivo de la vagina al útero que se bifurca en los llamados cuernos uterinos (izquierdo y derecho), terminando cada uno en la unión con los ovarios. Extraer con cuidado estos órganos en bloque (conjuntamente con la vejiga urinaria), separando del mesometrio que los rodea. Describir y fotografiar.

- **Ovarios:** Extraer, describir y fotografiar, así como pesar y medir como toma de datos para la historia de vida. Tomar muestras para microbiología y, si es posible, recoger el resto de cada ovario completo como muestra tanto para histopatología como para estado reproductivo.

- **Útero y vagina:** Cortar a lo largo de la vagina al útero con tijeras y abrirlo por completo. Describir y fotografiar. Tomar muestras del útero (cuello y cuernos) para microbiología e histopatología, y de la vagina para histopatología.


Fig.48: Aparato reproductor (hembra)

Fig.49: Ovario

Fig.50: Glándula mamaria

- **Glándula mamaria:** Tomar como referencia las hendiduras mamarias, localizando ambas glándulas integradas con la musculatura que se encuentra al mismo nivel. Describir, fotografiar y tomar muestras para histopatología y microbiología. En caso de tener contenido lácteo, tomar muestra para microbiología, toxicología y bioquímica.

- **Hembras gestantes:** Antes de extraer el aparato reproductor, tomar muestras de líquido amniótico para microbiología de manera aséptica con una jeringa estéril. Después de acceder al útero, recoger, además, muestras de placenta para microbiología e histopatología. En cuanto al feto, éste debe ser necropsiado por separado como si se tratase de una cría, aunque, en el caso de no tener un tamaño suficiente como para practicar dicha necropsia, se debe seccionar al animal a través de la línea media ventral, tomar muestras de pulmones, hígado y riñones, tanto para microbiología como para toxicología, y el resto del animal completo como muestra para histopatología.

A.2.10.7.2.- MACHO.-

- **Testículos:** situados uno a cada lado de la línea media ventral caudalmente a los riñones. Tienen forma alargada y transversalmente ovoide. Extraer, describir y fotografiar, así como pesar y medir como toma de datos para la historia de vida. Tomar muestras para microbiología, así como secciones de cada testículo, con el epidídimo, como muestra tanto para histopatología como para estado reproductivo (en los casos que el tamaño lo permita se recomienda recoger los testículos en su totalidad, excepto la muestra tomada para microbiología).
- **Próstata:** situada entre los huesos vestigiales (en las especies en las que están presentes) y en posición caudal a la vejiga. Realizar un corte trasversal aproximadamente en la distancia media de la longitud de dichos huesos pélvicos, seccionando musculatura periprostática, próstata y uretra. Describir, fotografiar y tomar muestras para histopatología.
- **Pene:** describir, fotografiar y tomar muestras para histopatología.



Fig.51: Testículos

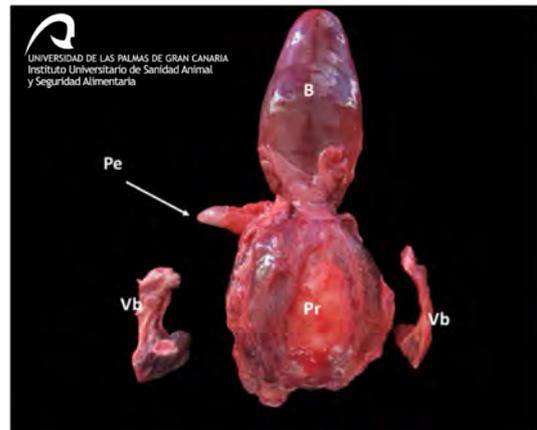


Fig.52: Próstata (Pr), pene (Pe), huesos vestigiales (Vb) y vejiga (B)

A.2.11.- APERTURA, EXAMEN Y EXTRACCIÓN DE ÓRGANOS DE LA CAVIDAD CRANEAL.-

En primer lugar, la cabeza debe ser separada del cuerpo. Para ello, desarticular la articulación atlanto-occipital, separando los cóndilos occipitales de la primera vértebra cervical (atlas). Luego, quitar la piel y la musculatura del cráneo justo detrás del espiráculo hacia atrás hasta ver el hueso. Abra una ventana en el cráneo, con una sierra o un cincel y un martillo, formada por cuatro líneas, una dorsal perpendicular a la cresta nugal y aproximadamente a un centímetro por debajo de ésta, otra ventral, paralela a la anterior, cortando a través del centro de los cóndilos

occipitales, y otras dos perpendiculares conectando las anteriores a modo de ventana, pasando por los huesos parietales y escamosos hasta las fosas occipitales. Tire de la parte posterior del cráneo con cuidado tratando de llevarlo a cabo en una sola pieza, separando suavemente el SNC de la duramadre. Describir y fotografiar.

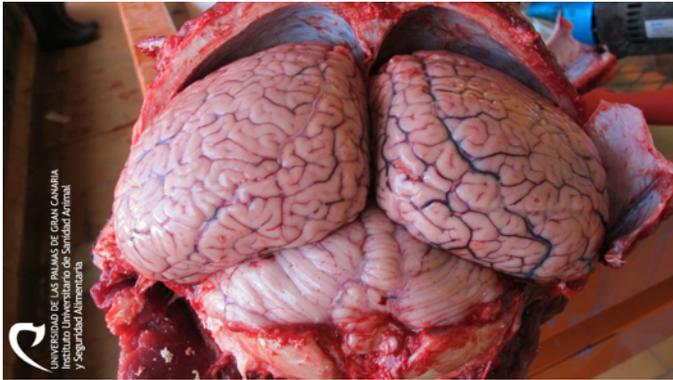


Fig.53: Encéfalo tras la apertura del cráneo

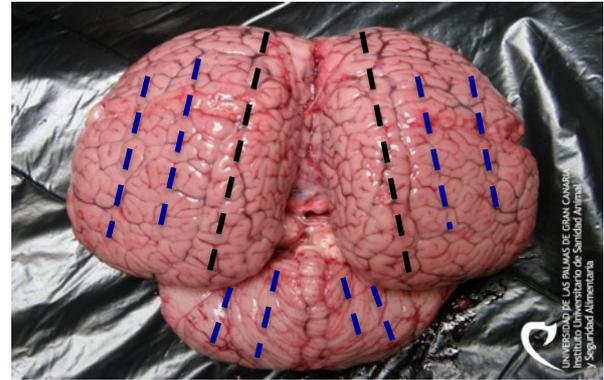


Fig.54: Esquema sección SNC

A.2.11.1.- SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC).-

Extraer el SNC, cortando a través de los nervios craneales en la zona ventral del cráneo, separando cuidadosamente con los dedos o mediante un bisturí. Situar la ventana realizada en el cráneo hacia abajo para ayudarse de la gravedad, haciendo que el SNC descienda suavemente hacia la mano. Describir y fotografiar.

Si la consistencia es firme, recoger muestras de cerebro para microbiología y toxicología. Luego, realizar varios cortes longitudinales, sin llegar a profundizar, tanto en los hemisferios cerebrales como en los cerebelosos y tomarlo por completo como muestra para histopatología. De los cortes dados a los hemisferios cerebrales al menos uno (por cada lado) debe llegar hasta los ventrículos laterales, para facilitar la entrada del formol en el interior del sistema ventricular.

Si la consistencia está disminuida, recoger muestras de diferentes áreas del cerebro, cerebelo, tronco encefálico y médula oblongada, para histopatología, microbiología y toxicología. También recoger una muestra para histopatología de la médula espinal.

Una vez extraído el SNC, localizar la silla turca del esfenoides, una pequeña oquedad ubicada más o menos central y ventralmente, en la superficie interna del cráneo, entre los nervios ópticos, lugar donde se aloja la hipófisis. Extraer y tomar como muestra para histopatología.

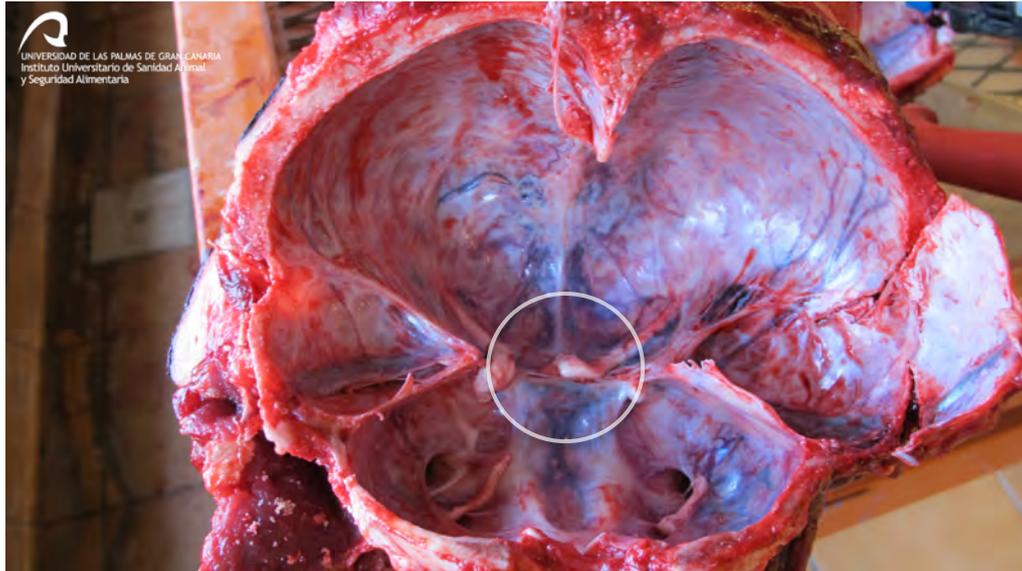


Fig.55: Localización de la silla turca del esfenoides

A.2.11.2.- SACOS PTERIGOIDEOS.-

Desarticular con cuidado la articulación temporo-mandibular y extraer la mandíbula. A continuación, abra los sacos, seccionando longitudinalmente a nivel de cada lado ventromedial del cráneo. Describir y fotografiar.

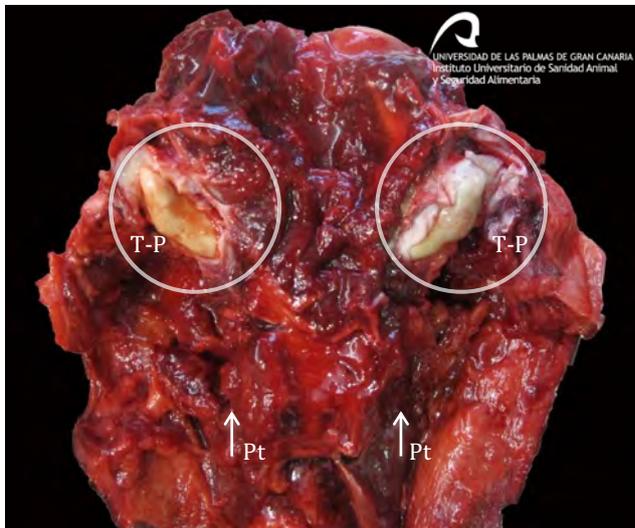


Fig.56: Vista ventral del cráneo tras desarticular la mandíbula. Pt: Sacos pterigoideos, T-P: complejos timpánico-perióticos.



Fig.57: Saco pterigoideo tras su apertura

A.2.11.3.- COMPLEJOS TIMPÁNICO-PERIÓTICOS.-

Los complejos timpánico-perióticos (T-P) pueden ser fácilmente localizados en cara lateral de los sacos pterigoideos (Pt) (Fig.56).

Cortar alrededor de los mismos, cuidadosamente para no fracturarlos y extraerlos del cráneo. Describir y fotografiar.

Posteriormente, separar el hueso periótico del timpánico. Localice las ventanas oval y redonda, haga un orificio pequeño y muy superficial a nivel de las mismas y, utilizando un catéter blando del mismo diámetro, introduzca formol al 10% de forma progresiva y muy lenta a través de dichas ventanas. Tomar por completo como muestra para histopatología.

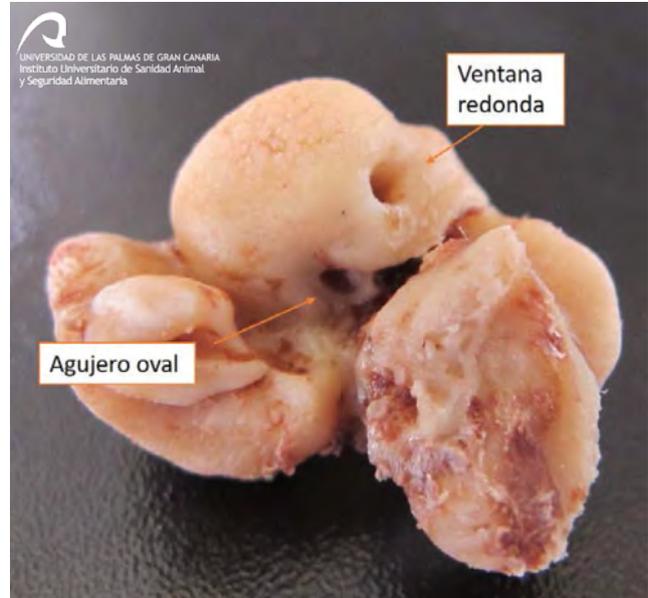


Fig.58: Porción periótica del T-P, lugares de inyección del formol al 10%

A.2.11.4.- DIENTES.-

Cortar cuidadosamente en torno a cada diente, profundizando hacia la base de la mandíbula, liberándolos suavemente para no dañarlos durante la extracción. Recoger 4 ó 5 dientes como muestras para estudios de edad.

A.2.11.5.- Ojos.-

Cortar alrededor y detrás del globo ocular para separarlo del cráneo. Extraer el humor vítreo de uno de ellos (o congelar completo) como muestra para bioquímica y recoger el otro para histopatología.

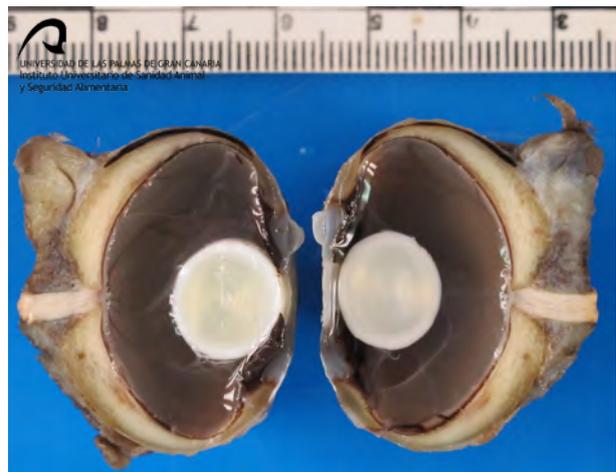


Fig.59: Globo ocular tras fijación (formol 10%) y tallado

A.3.- OTRAS CONSIDERACIONES.-

De manera transversal a la realización del examen externo e interno, se deberá tener en cuenta tanto la presencia de parásitos como de gases en los diferentes órganos y tejidos, tomando las fotos correspondientes y anotando las observaciones realizadas de la siguiente manera:

A.3.1.- PARÁSITOS.-

Durante la inspección de los órganos se prestará especial atención a la presencia de parásitos al tiempo que se realiza la apertura completa de luces de órganos tubulares y cortes transversales en órganos parenquimatosos. En el caso de estómago e intestino, tras su apertura completa, se realizará un mapeo mediante una fotografía general con escala. Del mismo modo, en el caso de presencia de *Xenobalanus* sp. y/o *Pennella* sp. en la superficie del animal, se realizarán fotos panorámicas, también con escala.

En la medida de lo posible, se recogerán de manera estandarizada el mayor número de parásitos presentes tal y como aparece reflejado en el protocolo de toma de muestras (apartado B.4.).

Así mismo, en todos los casos, se cumplimentará la tabla adjunta, indicando si hay o no presencia (**P**) de parásitos en los órganos inspeccionados y, en caso afirmativo, la carga parasitaria existente en los mismos (**C**), utilizando para ello el siguiente índice:

1. **Leve:** 1-10 parásitos
2. **Moderada:** 20-50 parásitos
3. **Intermedia:** 50-100 parásitos
4. **Elevada:** 100-500 parásitos
5. **Masiva:** más de 500 parásitos

LOCALIZACIÓN	ECTOPARÁSITOS / EPIBIONTES (Describir especie(s) y carga)
Aberturas naturales	
Cicatrices	
Heridas	
Superficie externa	

LOCALIZACIÓN	DIGENEOS		CESTODOS		NEMATODOS		ACANTOCÉFALOS	
	P	C	P	C	P	C	P	C
Blubber	<input type="checkbox"/>							
Complejo tímpano-periótico	<input type="checkbox"/>							
Conductos hepáticos/pancreáticos	<input type="checkbox"/>							
Corazón	<input type="checkbox"/>							
Estómago	<input type="checkbox"/>							
Glándula mamaria	<input type="checkbox"/>							
Intestino	<input type="checkbox"/>							
Músculo esquelético	<input type="checkbox"/>							
Peritoneo (parietal/visceral)	<input type="checkbox"/>							
Pulmón	<input type="checkbox"/>							
Riñón	<input type="checkbox"/>							
Sacos nasales	<input type="checkbox"/>							
Sacos pterigoideos	<input type="checkbox"/>							
SNC	<input type="checkbox"/>							
Subcutáneo	<input type="checkbox"/>							
Uréteres/Uretra	<input type="checkbox"/>							
Vasos sanguíneos	<input type="checkbox"/>							
Otros (nombrar)	<input type="checkbox"/>							

A.3.2.- GASES.-

En animales con códigos de conservación comprendidos entre 1 y 3 (ambos inclusive) (condition code: 2-3 – Kuiken & García Hartmann, 1991) se cumplimentará la tabla adjunta. Además, se recogerán, de la manera descrita en el protocolo de toma de muestras (apartado B.7.), tanto muestras de gases de cavidades (corazón, tracto digestivo, sacos pterigoideos, etc.), como de burbujas de gas que sean observadas en vasos (subcutáneos, coronarios, mesentéricos, etc.)

	Venas subcutáneas	Venas mesentéricas	Venas plexo retroperitoneal	Venas coronarias	Enfisema
Grado 0					
Grado 1					
Grado 2					
Grado 3					
Grado 4					
Grado 5					
Grado 6					

Venas: 0 (vasos congestivos); 1 (muy pocas burbujas y pequeñas); 2 (algunas discontinuidades); 3 (muchas discontinuidades); 4 (presencia moderada de burbujas); 5 (presencia muy abundante de burbujas); 6 (secciones de las venas repletas de gas).

Enfisema: 0 (no hay); 1 (sólo en cápsula renal); 2 (presencia moderada, afectando algún órgano más); 3 (generalizado).

INTESTINO
Observaciones:

V.DCHO, V.IZQ, AORTA y TRONCO PULMONAR (anotar también si no se recoge nada).
Observaciones:

SACOS AÉREOS
Observaciones:

BURBUJAS:
Localización: _____ Vol. Aprox ml
Observaciones:

Localización: _____ Vol. Aprox ml
Observaciones:

Localización: _____ Vol. Aprox ml
Observaciones:

B.- PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS.-

B.1- HISTOPATOLOGÍA.-

Para obtener mejores resultados y más concluyentes es importante realizar la toma de muestras lo antes posible después de la muerte del animal, siendo aconsejable que dicho muestreo se lleve a cabo, principalmente, en animales con códigos de conservación 1 a 3 (ambos inclusive) (condition code: 2-3 – Kuiken & García Hartmann, 1991).

Para el estudio histopatológico, las muestras de tejido no deben exceder de 1-1'5 cm de espesor. Si se recogen muestras de mayor tamaño deberán realizarse varios cortes paralelos en el tejido para asegurar la adecuada penetración del fijador, aunque se recomienda recoger varias muestras de tamaño apropiado en vez de una muestra grande.

Las muestras de órganos huecos (faringe, tráquea, intestino, etc.), linfonodos y glándulas deben recogerse incluyendo sus diferentes capas. Por otro lado, en el caso de muestras no estandarizadas, es decir, de zonas lesionadas, éstas deben recogerse, en la medida de lo posible, incluyendo parte del tejido aparentemente normal adyacente.

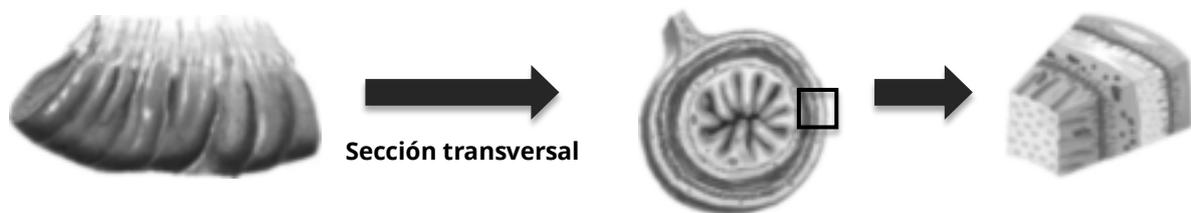


Fig. 60: Muestreo de órganos huecos (intestino)

Todos los tejidos deben ser conservados en formol al 10% (un litro de formol concentrado al 37%-40% de formaldehído en 9 litros de agua destilada). Las muestras recogidas del mismo animal pueden colocarse en un mismo bote, pero sin llenarlo demasiado. Antes de la necropsia se puede preparar los recipientes con 1/3 de formol al 10%, posteriormente poner las muestras en ellos llenando hasta alrededor de 2/3 del recipiente como máximo, y después terminar de llenar con formol.

Los recipientes deben ser anchos, con cierre hermético y tapón de rosca a prueba de fugas, así como ser debidamente etiquetado incluyendo el código del animal, la fecha de muestreo y el número de contenedores en relación con todos los contenedores utilizados en la necropsia.

Las muestras recogidas de órganos similares como, por ejemplo, los linfonodos, o de órganos pares como glándulas adrenales, complejos timpánico-perióticos, ovarios y testículos, deben ser colocados separadamente en cassettes o en bolsas microperforadas para su identificación, así como aquellas lesiones específicas que se quieran reconocer de manera diferenciada. En estos casos cada cassette o bolsa sólo tendrá una muestra, debiendo estar debidamente etiquetada.

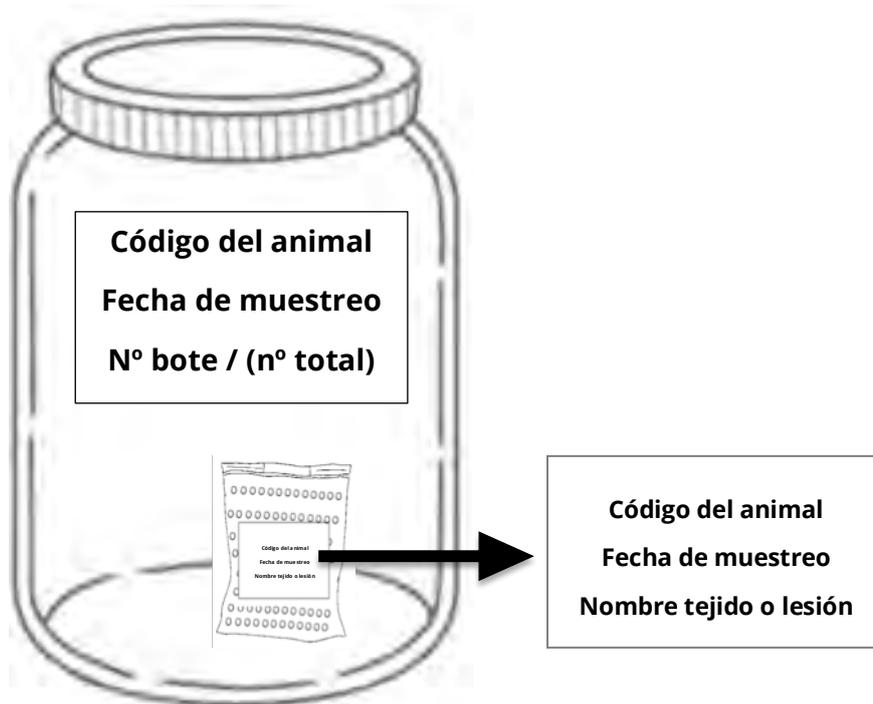


Fig. 61: Bote de muestras con bolsa microperforada para muestras específicas en su interior (debidamente etiquetado)

Por otra parte, las muestras de músculo esquelético deben ser cortadas siguiendo la dirección de las fibras musculares y fijadas un soporte como, por ejemplo, un depresor lingual mediante chinchetas o similar.



Fig. 62: Muestreo músculo esquelético

En cuanto al encéfalo, cuando se recoge en su totalidad, éste debe ser almacenado de manera independiente, sumergiéndolo en abundante formol en un bote aparte.

Por último, en el momento de recoger los complejos timpánico-perióticos, se debe introducir, progresiva y cuidadosamente, formol al 10% por las ventanas oval y redonda mediante un catéter del mismo diámetro que dichas ventanas, almacenándolos posteriormente, con el resto de muestras, en la forma indicada anteriormente.

B.2.- MICROBIOLOGÍA.-

Al igual que ocurre para los estudios histopatológicos, cuanto antes se realice la toma de muestras, tras la muerte del animal, podrán obtenerse más y mejores resultados. Asimismo, es aconsejable que dicho muestreo se lleve a cabo en animales cuyo código de conservación se encuentre comprendido entre 1 y 3 (ambos inclusive) (condition code: 2-3 – Kuiken & García Hartmann, 1991).

Se recomienda que el tamaño de muestra sea de unos 5 cm³ para tejidos, excepto el SNC (3 cm³), y de 2-5 ml en fluidos, debiendo recogerse de la manera más aséptica posible. Para ello, la superficie de los órganos debe ser desinfectada con un alcohol de 70%, antes de tomar la muestra, y usar instrumental estéril, o esterilizarlo mediante calor, para el muestreo.

Cada muestra deberá ser ubicada, de manera independiente, en una bolsa con cierre zip debidamente etiquetada. Asimismo, el conjunto de bolsas con las muestras recogidas, serán colocadas en el interior de otra bolsa con cierre zip de mayor tamaño y también apropiadamente etiquetada. Dichas muestras serán almacenadas a 4°C, si pueden ser enviadas al laboratorio dentro de las 24 horas, de lo contrario, deben congelarse lo antes posible a -80°C.

Es recomendable duplicar la recogida de muestras, teniendo una para el análisis y la otra para ser archivada, con el fin de evitar la pérdida de información y de confirmar o rechazar posibles resultados dudosos en las técnicas de diagnóstico.

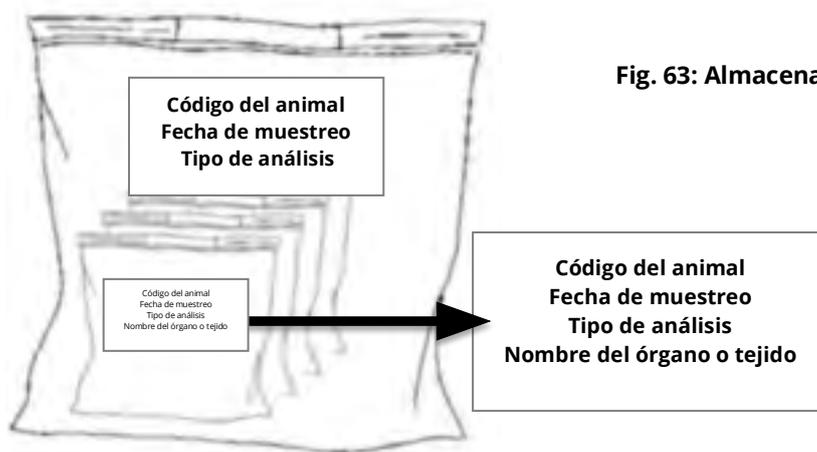


Fig. 63: Almacenaje de muestras

B.3.- TOXICOLOGÍA.-

El tamaño de muestra recomendable es igual que para los estudios microbiológicos, esto es, 5 cm³ para tejidos, excepto el SNC (3 cm³), y 2-5 ml para fluidos, siendo sólo aconsejable recoger muestras de los cadáveres con códigos de conservación entre 1 y 4 (ambos inclusive) (condition code: 2-4 – Kuiken & García Hartmann, 1991, excepto de aquellos órganos en los que se haya iniciado los procesos de licuefacción). La manera de guardar las muestras es igual que para microbiología, pero haciendo una salvedad dependiendo del tipo de análisis a realizar. Para la determinación de compuestos orgánicos, las muestras sólo deben entrar en contacto con acero inoxidable, aluminio, vidrio o teflón, por lo que es aconsejable envolverlas en papel de aluminio antes de introducirlas en su bolsa correspondiente. Por el contrario, para el análisis de metales pesados, no deben entrar en contacto con metales distintos al acero inoxidable, por lo que podrán almacenarse directamente en las bolsas con cierre zip.

Las muestras clasificadas de la manera descrita en el apartado anterior, deberán ser congeladas a una temperatura máxima de -20°C, siendo también aconsejable tomar dos conjuntos de muestras, una para el análisis y el otro para su archivo.

B.4.- PARASITOLOGÍA.-

Como se dijo anteriormente, en la medida de lo posible se recogerán, de manera estandarizada, el mayor número de parásitos presentes, con el fin de censar la carga parasitológica. Las muestras se recogerán, para cada tipo de parásito y órgano parasitado, en diferentes recipientes, y se fijarán en alcohol 70°, incluyendo en la etiqueta el nombre del órgano donde fue observado.

B.5.- BIOQUÍMICA.-

Se recogerán muestras de humor vítreo, sangre, orina y leche, estas dos últimas siempre que estén presentes, en animales cuyo código de conservación sea 1 ó 2 (condition code: 2-3 – Kuiken & García Hartmann, 1991, exceptuando aquellos animales en los que existan fenómenos de autólisis moderada).

A la hora de almacenar las muestras recogidas, si es posible enviarlas a un laboratorio dentro de las primeras 24 horas, podrán mantenerse a 4 ° C, de lo contrario, deben congelarse lo antes posible a una temperatura máxima de -20°C. En este caso, centrifugar la sangre con el fin de almacenar en congelación el suero sanguíneo.

B.6.- HISTORIA DE VIDA.-

B.6.1.- EDAD.-

Se recogerán al menos 4-5 dientes (con raíz), preferiblemente de la zona media de la mandíbula, para luego almacenarlos, en una bolsa con cierre zip o en un bote hermético, en congelación a una temperatura máxima de -20°C. En misticetos, se recogerá el tapón de cera existente en el conducto auditivo externo, almacenándolo del mismo modo. Este tipo de muestras pueden ser tomadas en animales con códigos de conservación entre 1 y 5 (ambos inclusive).

B.6.2.- DIETA.-

Por un lado, en el caso de existir contenido alimenticio en estómago (o en tramos digestivos anteriores), se recogerá en su totalidad, almacenándolo, en una bolsa con cierre zip o en bote hermético, en congelación a una temperatura máxima de -20°C, o en alcohol al 70%.

Además, se tomarán muestras de al menos 2 cm³ de blubber, así como de barbas (con ecia) en misticetos, para su almacenaje, en una bolsa con cierre zip o en bote hermético, en congelación a una temperatura máxima de -20°C, para la posterior realización de estudios de isótopos estables (y de tipos de presas en las barbas).

Se recomienda recoger este tipo de muestras en animales con códigos de conservación comprendidos entre 1 y 4 (ambos inclusive) (condition code: 2-4 – Kuiken & García Hartmann, 1991, excepto cuando se hayan iniciado los procesos de licuefacción).

B.6.3.- GENÉTICA.-

Se recogerán muestras de piel y músculo de al menos 2 cm³, de animales con códigos de conservación entre 1 y 5 (ambos inclusive), para luego introducir las en un bote hermético, pudiendo ser almacenadas mediante fijación en alcohol de 96° o en congelación a una temperatura máxima de -20°C.

B.6.4.- ESTADO REPRODUCTIVO.-

Para este tipo de estudios se recolectarán muestras de ambas gónadas para su estudio histológico, por lo que, al igual que en las muestras para histopatología, deberán ser fijadas en formol al 10% y almacenadas de manera diferenciada los ovarios o testículos de cada lado. Como se comentó anteriormente, se recomienda recoger, principalmente, muestras de animales con

códigos de conservación 1 a 3 (ambos inclusive) (condition code: 2-3 – Kuiken & García Hartmann, 1991).

B.7.- GASES.-

Como se dijo anteriormente, en animales con códigos de conservación comprendidos entre 1 y 3 (ambos inclusive) (condition code: 2-3 – Kuiken & García Hartmann, 1991), además de cumplimentar la tabla descrita en el apartado A.3.2, cuando se observen burbujas de gas en vasos (subcutáneos, coronarios, mesentéricos, etc.), éstas deberán ser recogidas mediante jeringas de insulina y almacenadas en vacutainers (uno por muestra). Asimismo, se recogerán muestras de gases de cavidades (corazón, tracto digestivo, sacos pterigoideos, etc.) mediante aspirómetro o vacutainers (según el caso).

C.- LISTADO ESTANDARIZADO DE MUESTRAS.-

A continuación se adjuntan varios listados tipo check-list con las muestras mínimas a recoger durante la necropsia. Además, deberán tomarse aquellas muestras que según el criterio del personal técnico especializado sean necesarias para un mayor entendimiento de las posibles causas de varamiento y/o muerte de los animales, valorar el estado sanitario de las poblaciones de origen, ahondar en el conocimiento científico de las especies, etc.

TOMA DE MUESTRAS PARA HISTOPATOLOGÍA

(ordenadas alfabéticamente)

<p>Aorta* <input type="checkbox"/> Torácica <input type="checkbox"/> Abdominal</p> <p>Bazo <input type="checkbox"/></p> <p>Corazón* <input type="checkbox"/> Aurículas (izqda. y dcha.) <input type="checkbox"/> Ventriculos (izqdo. y dcho.) <input type="checkbox"/> Válvulas A-V (izqda. y dcha.), T.A y T.P <input type="checkbox"/> Septo IV</p> <p>Cordón umbilical <input type="checkbox"/></p> <p>Diafragma <input type="checkbox"/></p> <p>Encéfalo <input type="checkbox"/> Completo (recomendado) (en bote separado) <input type="checkbox"/> Secciones <input type="checkbox"/> Cerebro <input type="checkbox"/> Cerebelo <input type="checkbox"/> Tronco encef.</p> <p>Esófago <input type="checkbox"/></p> <p>Estómago <input type="checkbox"/> Queratinizado <input type="checkbox"/> Principal <input type="checkbox"/> Pilórico</p> <p>Feto (peqs.) <input type="checkbox"/></p> <p>Glándulas adrenales* <input type="checkbox"/> Izquierda <input type="checkbox"/> Derecha</p> <p>Glándula mamaria <input type="checkbox"/></p> <p>Hígado <input type="checkbox"/></p> <p>Hipófisis* <input type="checkbox"/></p> <p>Intestino* <input type="checkbox"/> Ampolla duodenal <input type="checkbox"/> Porción proximal <input type="checkbox"/> Porción media <input type="checkbox"/> Porción distal</p> <p>Lengua <input type="checkbox"/></p> <p>Linfonodos* <input type="checkbox"/> Preescapular <input type="checkbox"/> Traqueobronquial <input type="checkbox"/> Pulmonar <input type="checkbox"/> Mesentérico <input type="checkbox"/> Rectal <input type="checkbox"/> Otros (anotar):</p>	<p>Médula espinal <input type="checkbox"/></p> <p>Musculatura esquelética <input type="checkbox"/> Músc. longísimo dorso <input type="checkbox"/> Músc. recto abdominal</p> <p>Oídos* <input type="checkbox"/> Izquierdo <input type="checkbox"/> Derecho</p> <p>Ojo <input type="checkbox"/></p> <p>Ombligo <input type="checkbox"/></p> <p>Ovarios*® <input type="checkbox"/> Izquierdo <input type="checkbox"/> Derecho</p> <p>Páncreas <input type="checkbox"/></p> <p>Pene <input type="checkbox"/></p> <p>Piel (incluido blubber) <input type="checkbox"/></p> <p>Placenta <input type="checkbox"/></p> <p>Próstata <input type="checkbox"/></p> <p>Pulmón <input type="checkbox"/> (izqdo. y dcho.)</p> <p>Rete mirabile* <input type="checkbox"/> (varias porciones)</p> <p>Riñón <input type="checkbox"/> (izqdo. y dcho.)</p> <p>Testículos*® <input type="checkbox"/> Izquierdo <input type="checkbox"/> Derecho</p> <p>Timo <input type="checkbox"/></p> <p>Tiroides <input type="checkbox"/></p> <p>Tonsila faríngea* <input type="checkbox"/></p> <p>Tonsila laríngea* <input type="checkbox"/></p> <p>Útero* <input type="checkbox"/> Cuernos <input type="checkbox"/> Izqdo. <input type="checkbox"/> Dcho. <input type="checkbox"/> Cuello</p> <p>Vagina <input type="checkbox"/></p> <p>Vejiga urinaria <input type="checkbox"/></p> <p>Otras muestras <input type="checkbox"/> Anotar:</p>
--	---

* Identificar cada muestra en bolsas microperforadas independientes
 ® Puede ser la misma muestra en la que se realizan los estudios de historia de vida

TOMA DE MUESTRAS PARA MICROBIOLOGÍA

(ordenadas alfabéticamente)

Bazo	<input type="checkbox"/>	Líquido amniótico	<input type="checkbox"/>
Cordón umbilical	<input type="checkbox"/>	Musculatura esquelética	<input type="checkbox"/>
Cerebro	<input type="checkbox"/>	Ombbligo	<input type="checkbox"/>
Feto (peqs.)	<input type="checkbox"/> Hígado	Orina	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Pulmón	Ovario	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Riñón	Piel (incluido blubber)	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Otros (anotar):	Placenta	<input type="checkbox"/>
Glándula adrenal	<input type="checkbox"/>	Pulmón	<input type="checkbox"/>
Glándula mamaria	<input type="checkbox"/>	Rete mirabile	<input type="checkbox"/>
Hígado	<input type="checkbox"/>	Riñón	<input type="checkbox"/>
Intestino	<input type="checkbox"/>	Testículo	<input type="checkbox"/>
Linfonodos	<input type="checkbox"/> Prescapular	Timo	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Traqueobronquial	Útero	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Pulmonar	Sangre	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Mesentérico	Otras muestras	<input type="checkbox"/> Anotar:
	<input type="checkbox"/> Otros (anotar):		
Leche	<input type="checkbox"/>		

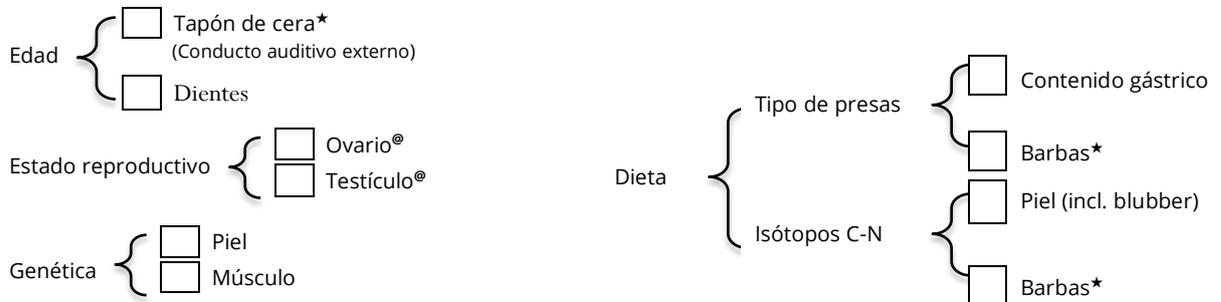
TOMA DE MUESTRAS PARA TOXICOLOGÍA

(ordenadas alfabéticamente)

	COPs	Metales Pesados
Cerebro	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Feto (peq.)	<input type="checkbox"/> Hígado	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Pulmón	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Riñón	<input type="checkbox"/>
Hígado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Leche	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Musculatura esquelética	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Orina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Piel (incluido blubber)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pulmón	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sangre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

TOMA DE MUESTRAS PARA HISTORIA DE VIDA

(ordenadas según estudio)



*Misticetos

® Puede ser la misma muestra utilizada para el estudio histopatológico

TOMA DE MUESTRAS PARA BIOQUÍMICA

(ordenadas alfabéticamente)

- Humor vítreo
- Leche
- Orina
- Sangre

D.- GLOSARIO DE TÉRMINOS.-

A continuación se describen algunos términos referidos a conceptos manejados habitualmente durante la realización del estudio sanitario en cetáceos:

ADIPOCIRA: Transformación grasa de la carcasa debido a la acción de enzimas bacterianas. Este fenómeno se asocia, principalmente, a la permanencia del cadáver sumergido o flotando por tiempo prolongado.

AGENTE ETIOLÓGICO: Entidad física, química o biológica que puede causar enfermedad en un organismo.

AUTOLISIS: Desintegración espontánea de tejidos o células por la acción de sus propias reacciones químicas. Este proceso puede comenzar antes de la muerte del animal debido a la falta de suministro de sangre a los tejidos y se verá acentuado por las altas temperaturas.

CAUSA DE MUERTE: La condición, trastorno, lesión o enfermedad que en solitario, en combinación entre ellos y/o con otros factores (ambientales, nutricionales, infecciosos, parasitarios, rango de edad, sexo, etc.) son responsables de iniciar el mecanismo de la muerte.

CAUSA DE VARAMIENTO: Factores fisiológicos, conductuales, ambientales y/o patológicos que, solos o en combinación con otros, pueden contribuir o causar directamente el varamiento del animal (o animales).

CURVA DE CRECIMIENTO: Modelo empírico de la evolución de la longitud total de una especie determinada a lo largo del tiempo.

DIAGNÓSTICO VETERINARIO: Procedimiento sistemático y ordenado destinado a determinar la causa (o causas) de una afección o trastorno que afecta la salud de un animal o grupo de animales.

DISECCIÓN: Procedimiento anatómico sistemático de apertura y exposición de las diferentes cavidades y órganos de un animal destinados a su estudio científico.

ENFERMEDAD: Alteración leve o grave del funcionamiento normal de un organismo o de alguna de sus partes debida a una causa interna o externa.

INVESTIGACIÓN POST MORTEM: Todos los estudios y análisis científicos realizados a un animal muerto y/o a muestras tomadas del mismo. Esto también incluye aquellas investigaciones dirigidas a determinar la causa (o causas) de muerte, pero teniendo en cuenta que la emisión del

diagnóstico de causa de muerte debe ser realizada por un veterinario, siendo recomendable que éste sea patólogo o cuente con una formación específica en patología animal.

LESIÓN: Área de un órgano o tejido que ha sufrido daños por traumatismo o enfermedad.

LICUEFACCIÓN: Descomposición avanzada de tejidos, que muestra una pérdida progresiva de consistencia orgánica y su transformación en un estado más líquido.

LIVOR MORTIS: La sangre dentro de los vasos se deposita bajo la gravedad debido a la interrupción de la circulación, produciendo un color rosa-púrpura (hipóstasis) en áreas dependientes, principalmente en las más bajas. Al principio, se pueden observar formas rosadas circulares y / o lineales que se agrandarán gradualmente por difusión y se unirán entre sí para convertirse en verdosas, violáceas e incluso negruzcas, debido a la putrefacción, cubriendo toda la superficie del animal. En ciertos casos, los cambios externos de color pueden verse disminuidos o ausentes, principalmente en animales flotantes, por lo que su utilidad como señal para establecer el código de conservación debe tomarse con precaución.

MECANISMO DE MUERTE: Los procesos fisiológicos y / o fisiopatológicos que resultan en la muerte del animal.

MOMIFICACIÓN: Desección de la carcasa al evaporarse el agua de los tejidos. Este fenómeno se asocia, principalmente, a la permanencia del cadáver, por tiempo prolongado, en ambientes secos, con altas temperaturas y ventilados.

NECROPSIA / EXAMEN *POST MORTEM*: Procedimiento veterinario que consiste en la disección de un animal muerto con fines diagnósticos, siendo la causa (o causas) de muerte el principal y último objetivo.

PUTREFACCIÓN: Descomposición del animal muerto debido a microorganismos anaerobios ya presentes en el tracto digestivo del animal cuando estaba vivo. Estas bacterias digieren las proteínas del cuerpo y producen gases y otros compuestos que transportan el olor pútrido asociado con un cuerpo en descomposición. Los gases están inicialmente restringidos dentro de las cavidades del cuerpo y luego se extienden a otras partes del cuerpo. El resultado es una hinchazón progresiva y visible de la carcasa, siendo muy evidente inicialmente en tejidos blandos como lengua, vulva, etc.

RIGOR MORTIS: Fenómeno fisicoquímico, dependiente de la temperatura, que se produce en las células musculares tras la interrupción del suministro de oxígeno. Se observan músculos

rígidos y solo se volverán flácidos cuando se rompan debido a la descomposición o su flexión forzada. El ejercicio intenso antes de la muerte acelera este proceso. La presencia de rigor mortis indica que el estado de conservación del animal muerto es moderadamente bueno.

SALUD: Completo estado de bienestar físico, mental y social de un animal o grupo de animales.

SEGUIMIENTO SANITARIO: Estudio y vigilancia sistemática de los factores de riesgo, tanto ambientales como de origen antrópico, que afectan o pueden afectar a la salud de las poblaciones.

SÍNDROME DE VARAMIENTO: Conjunto de síntomas y lesiones asociadas a la permanencia prolongada del animal vivo en la costa (fuera del agua), así como al estrés agudo derivado del manejo antrópico.

VARAMIENTO: Animal vivo encallado en cualquier lugar de la costa sin que pueda regresar al agua o, siendo capaz de volver al agua, necesite atención veterinaria aparente, o se encuentre dentro de las aguas jurisdiccionales estatales siendo incapaz de volver a su hábitat natural por sus propios medios o sin asistencia. En caso de animales muertos, se corresponden tanto con los encallados en cualquier lugar de la costa como con los hallados flotando dentro de las aguas jurisdiccionales estatales.

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA: Estudio y seguimiento sistemático de la distribución y de los factores que determinan la incidencia y prevalencia de determinadas enfermedades o agentes etiológicos concretos.