

MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE SANGRE EN *Nasua nasua* PARA DETERMINACIÓN DE VALORES HORMONALES.

Rubén H Morales y Ariel Lucero

Jardín Zoológico y Botánico de la Ciudad de La Plata- Argentina

Email: cuansilca@gmail.com

Resumen. En el área de investigación, los zoológicos deben avocar sus esfuerzos a proveer de protocolos seguros para el manejo de las especies ya sea para su estudio *in-situ* como *ex-situ*, el conocimiento y aplicación de los métodos de extracción de sangre más ventajosos, como parte de los estudios reproductivos, es de relevante importancia al posibilitar un manejo adecuado, minimizando los tiempos y riesgos de anestésicos, aplicados a las distintas especies. El objetivo de este estudio es establecer un método seguro y confiable de extracción de sangre en *Nasua nasua*, minimizando el tiempo de permanencia bajo anestésicos. Las extracciones de sangre se realizaron en una población de 6 ejemplares (N=3) hembras, alojadas en un recinto del Zoológico de La Plata, Argentina. Se procedió a la captura de los ejemplares por medios manuales, registrándose los datos en una planilla diseñada para tal efecto. Se procedió a pesar los ejemplares para calcular la dosis necesaria de droga para dormirlos. Las drogas empleadas fueron: Ketamina 50 mg./ml.; Acepromacina 0,1 mg./kg. Durante el procedimiento se controla la frecuencia cardiaca inicial y final. Se prueban tres lugares de punción: Vena radial, Vena yugular, Vena femoral. Se controlan los tiempos de efecto de los anestésicos y tiempo de recuperación de actividad normal. Un mes después se realiza una nueva serie de toma de muestras en la misma población de 6 ejemplares (N=3) hembras. Se procede de igual modo a la anterior toma de muestras, probando nuevamente los puntos de extracción. Luego de establecer un análisis comparativo entre el primer procedimiento y el segundo concluyendo: Lugar de extracción a utilizar: Vena yugular; Los tiempos de recuperación de los especímenes al anestésico, mejoraron en el segundo procedimiento. El método de captura manual utilizado, ha demostrado ser eficaz y seguro.

Palabras Clave: *Nasua nasua*; extracción sangre; vena yugular; zoológico.

METHOD TO BLOOD EXTRACTION IN *Nasua nasua* TO DETECT HORMONALS LEVELS.

Abstract: The zoos most to focuses their efforts to provide sure protocols for species management of their study *in-situ* and *ex-situ*, the knowledge and application of the most advantageous methods of blood extraction, like part of the reproductive studies, are from outstanding importance when facilitating an appropriate handling, minimizing the times and anesthesia risks, applied to the different species. The objective of this study is to establishing a sure and reliable method of blood extraction in *Nasua nasua*, minimizing the time of permanency low anesthesia. The blood extractions were carried out in a population of 6 female (N=3), housed in an enclosure of the La Plata Zoo, Argentina. Proceeded to capture of the animals by hands, and registering data's in a schedule designed for it. We describe the proceeding to weigh and to calculate the necessary dose of drug used (Ketamina 50 mg./ml.; Acepromacina 0,1 mg./kg). During the procedure the initial heart's frequency is controlled. Three punctation places were proved: radial vein, jugular vein, femoral vein. The times of the anesthesia effect and recovery time for normal activity were controlled. A month later is carried out a new series of taking of samples in the same population of 6 female (N=3). The same procedure was carried out. After establishing a comparative analysis between the first procedure and the second, concluding: Extraction place to use: Jugular Vein; The times of recovery of the specimens to the anesthesia, improved in the second procedure. The manual method of capture used was demonstrated to be effective and sure.

Key words: *Nasua nasua*; blood extraction; jugular vein; zoo.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad las funciones primordiales de los zoológicos son la investigación, la conservación, la educación y el entretenimiento. En el área de investigación los zoológicos deben avocar sus esfuerzos en proveer de protocolos seguros para el manejo de las diferentes especies ya sea para su estudio *in-situ* como *ex-situ*.

Dentro de este marco, el conocimiento y aplicación de los métodos de extracción de sangre más ventajosos, como parte de los estudios reproductivos, es de relevante importancia ya que posibilitan un manejo adecuado, minimizando los tiempos y riesgos de anestésicos, aplicados a las distintas especies.

La posibilidad que existe en los zoológicos de contar con diferentes de especies en cautiverio, algunas de las cuales aún son poco conocidas a nivel fisiológico, comportamental, etc., hace necesario que los profesionales y técnicos de dichas instituciones extrapolen las experiencias obtenidas en el trabajo de especies domésticas.

Esto no quiere decir que los especímenes alojados en zoológicos sean utilizados como animales de laboratorio, sino por el contrario estos animales son una herramienta importante en la conservación y como tal deben ser cuidadas y preservadas.

El objetivo de este trabajo es establecer un método seguro y confiable de extracción de sangre en el coati *Nasua nasua*, minimizando el tiempo de permanencia bajo anestésicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las extracciones de sangre se realizaron en una población de 6 ejemplares de coati *Nasua nasua* (N=3) hembras, alojadas en un recinto del zoológico de La Plata (34° 55' S – 57° 59' W) en Buenos Aires, Argentina.

Volumen mínimo requerido para el estudio: 5 ml.

Se procedió a la captura de los ejemplares por medios manuales con:

- Caza-monos (copo) de malla cerrada.
- Guantes de cuero de descarne.

Para el traslado de los ejemplares al servicio veterinario de la institución se utilizó:

Sacas de lienzo con trama cerrada de plastillera.

Fue confeccionada una planilla de recolección de datos como se muestra en la tabla I.

Tabla I. Planilla de recolección de datos.

| Muestra N° | Fecha | Hora | T° | H° | L° |
|-------------------------------|-------|-----------------|-----------|----------|-----------|
| Especie | - | - | ID | - | - |
| Aspecto de la vulva | - | Color | - | Humedad | Húmeda |
| - | - | - | - | - | Par. Hum. |
| - | - | - | - | - | Seca |
| - | - | Tumefacción | - | - | - |
| - | - | Secreción | - | Color | - |
| - | - | - | - | Incolora | - |
| - | - | Viscosidad | - | - | - |
| - | - | Apertura vulvar | - | Abierta | Cerrada |
| - | - | Tapón vaginal | - | Si | No |
| Medidas vulvares | - | Longitud | - | - | - |
| - | - | Ancho | - | - | - |
| - | - | Apertura | - | - | - |
| - | - | Labio | - | - | - |
| Temperatura | - | Vaginal | - | - | - |
| - | - | Rectal | - | - | - |
| Muestra de Flujo/Mucus | - | - | - | - | - |
| Colpocitología | - | - | - | - | - |
| Ph | - | - | - | - | - |
| Extracción de sangre | - | - | - | Volumen | - |

Se procedió a pesar a los ejemplares para calcular la dosis necesaria para dormirlos.

Las drogas empleadas fueron:

- Ketamina 50 mg. /ml.
- Acepromacina 0,1 mg. /kg.

Dosis: Ketamina: 1,5 ml. Acepromacina: 0,5 ml. Las dosis empleadas son expresadas en la tabla II

Tabla II. Anestésicos y dosis.

| Droga | Concentración | Dosis |
|---------------------|---------------|---------|
| Ketamina | 50 mg. /ml. | 1,5 ml |
| Acepromacina | 0,1 mg. /kg. | 0,5 ml. |

Jeringa y aguja de 21 G (0,80 mm.). Jeringas de 5 y 10 cm³

Agujas de 21G (0,80mm.)

Agujas para la extracción: Calibre 1,2 mm.; Longitud 38 mm.

Durante el procedimiento se controla la frecuencia cardiaca inicial y final.

Se prueban tres lugares de punción:

- Vena radial: se procede a depilar la zona de punción, se desinfecta la misma y se procede a realizar la extracción.
- Vena yugular: de igual modo que en el anterior lugar se procede a depilar y desinfectar y realizar la extracción; el animal debe estar colocado sobre la mesa en decúbito esternal. Con una mano, se lo inmoviliza colocando el cuello hacia arriba, agarrando el hocico y extendiendo la cabeza (Figura 1). Con la otra mano le sujetará las extremidades delanteras, asiéndole por los carpos. Hay que distender la vena aplicando presión en el lateral de la zona traqueal con el pulgar de la mano libre e insertar la aguja con el bisel hacia arriba en un ángulo como de 30 grados (Figura 2). La punción de la vena se puede hacer mediante dos métodos: el directo (se punciona directamente sobre la vena, Figura 3) y el indirecto (se punciona la zona cercana al vaso y luego dirigimos la aguja hacia el trayecto venoso).
- Vena femoral: se desinfecta la zona, no es necesaria la depilación ya que es una zona desprovista de pelos; El punto de punción se ubica a 1cm. posterior al pezón de la última mama inguinal derecha, vena femoral derecha del miembro posterior derecho H2 al Angulo de la rodilla. Luego de la extracción se realiza un tatuaje con tinta china para ubicar a posterior la zona de punción.



Figura 1. Método de sujeción y ángulo de inserción.
(Foto: Hernán Fernández Baleztena.- Zoológico de La Plata)

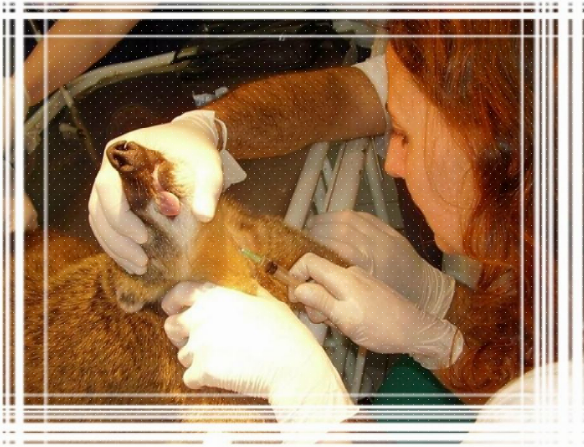


Figura 2. Angulo de inserción.
(Foto: Hernán Fernández Baleztena.-Zoológico de La Plata)

Figura 3. Extracción de muestra (5mm.)
(Foto: Hernán Fernández Baleztena.- Zoológico de La Plata)



Se controlan los tiempos de efecto de los anestésicos y tiempo de recuperación de actividad normal.

Un mes después se realiza una nueva serie de toma de muestras en la misma población de 6 ejemplares (N=3) hembras. Se procede de igual modo a la anterior toma de muestras, probando nuevamente los puntos de extracción, comenzando por la Vena yugular.

En esta ocasión se logra extraer 5 ml. en la primera punción en N=3.

Los tiempos de anestesia y recuperación fueron reducidos en tiempo entre 15 minutos y 18 minutos por ejemplar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el primer procedimiento de extracción se obtuvo:

a. Primer procedimiento de extracción:

Duración tiempo de captura manual de los tres ejemplares: 6´11" Peso promedio de los ejemplares 4,600 kg. + 50 gr.

Ritmo cardiaco: 144 l/min inicio de sedación; 196 l/min final.

Resumen de tiempos de sedación registrados:

- Tiempo en el que se alcanza la inconsciencia luego de la aplicación de la anestesia: 4 minutos.
- Fuera de plano a la hora y 5 minutos.
- Comienzo de la recuperación de la conciencia: 20 minutos posteriores a la salida de plano.
- Se sienta a los 25 minutos posteriores de la recuperación de la conciencia.
- A los 30 minutos posteriores de sentarse da el primer paso.
- A los 15 minutos posteriores de dar el primer paso ya puede cambiar completamente de posición (primer intento de incorporación).
- Una hora después del primer intento de incorporación se levanta sobre sus 4 extremidades.
- A las 2,30 hs. Posteriores a pararse en 4 patas se lo observó durmiendo.
- Una hora 56 min se la ve con reacciones normales.
- Al otro día por la mañana 7 am. Se lo reunió con el resto del grupo.
- Se reincorporó al grupo sin ningún tipo de inconveniente.
- Tiempo de recuperación: 8 hs. 35 min.

Volúmenes de extracción:

- Extracción vena radial: 1,5 ml.
- Extracción vena yugular: 0 ml.
- Extracción vena femoral izq. 3,8 ml.

b. Segundo procedimiento de extracción:

- Duración tiempo de captura manual de los tres ejemplares: 8´36" Peso promedio de los ejemplares 4,600 kg. +- 50 gr.
- Ritmo cardiaco: 144 l/min. inicio de sedación; 196 l/min. final.

Resumen de tiempos de sedación registrados:

- Tiempo en el que se alcanza la inconsciencia luego de la aplicación de la anestesia: 5 minutos.
- Fuera de plano a los 15 minutos, ejemplar 1 y 3, ejemplar 2: 17 min.
- Se toma registro de tiempos de recuperación de los tres ejemplares.
- Ejemplo: Individuo 3
- Comienzo de la recuperación de la conciencia: entre 2 y 4 minutos posteriores a la salida de plano.
- Se sienta a los 8 minutos posteriores de la recuperación de la conciencia.
- A los 16 minutos posteriores de sentarse da el primer paso.
- A los 10 minutos posteriores de dar el primer paso ya puede cambiar completamente de posición (primer intento de incorporación).
- 30 min después del primer intento de incorporación se levanta sobre sus 4 extremidades.
- A los 56 min. se la ve con reacciones normales.
- Al otro día por la mañana 7 am. Se lo reunió con el resto del grupo.
- Se reincorporó al grupo sin ningún tipo de inconveniente.
- Tiempo de recuperación: 2 hs. 24 min.

Volúmenes de extracción:

- Extracción vena yugular: promedio 7 ml.

CONCLUSIONES

1. Lugar de extracción a utilizar: vena yugular, ya que es de fácil acceso, obteniendo los volúmenes requeridos para el estudio.
2. Los tiempos de recuperación de los especímenes al anestésico, mejoraron en el segundo procedimiento, por lo cual se decide utilizar iguales dosis y drogas en las siguientes extracciones.
3. El método de captura manual utilizado, ha demostrado ser eficaz, minimizando los riesgos tanto para los especímenes como para el personal interviniente.

REFERENCIAS

1. Desjardins C 1986. Indwelling Vascular Cannulas. In **Methods of Animal Experimentation**, Chapter 4, (eds WI Gay & JE Heavner), Vol. VII: Research Surgery and Care of the Research Animal, Part A- Patient Care, Vascular Access and Telemetry. Academic Press, pp. 143-194
2. Stuhlman RA, Packer J.T. and Rose S. D. 1972. Repeated blood sampling of *Mystromys albicaudatus*. **Laboratory Animal Science** **22**, 268-270
3. Timm K. I. 1989. Orbital venous anatomy of the Mongolian Gerbil with comparison to the mouse, hamster and the rat. **Laboratory Animal Science**, **39**, 262-264.
4. R. H. Evans 2002. Anestesia y contención de Mapaches y otros miembros de su familia (Carnívora, Procyonidae). In: **Zoological Restraint and Anesthesia**, D. Heard (Ed.) Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA.
5. Bivin W. S. and Smith G. D. 1984. Techniques of experimentation. In **Laboratory Animal Medicine**, Chapter 19 (eds JG Fox *et al*), pp. 563-594. London: Academic Press.
6. Cravener TL and Vasilatos-Younken R. 1989. A method for catheterisation, harnessing and chronic infusion of undisturbed chickens. **Laboratory Animals** **23**, 270-274
7. Harms P. G. and Ojeda S. R. 1974. A rapid and simple procedure for chronic cannulation of the rat jugular veins. **Journal of Applied Physiology**, **36**, 391-392.
8. Jackson R. K, *et al*. 1988. A tethered-restraint system for blood collection from ferrets. **Laboratory Animal Science**, **38**, 625-628
9. Ladewig J. and Stribny K. 1988. A simplified method for stress free continuous blood collection in large animals. **Laboratory Animal Science** **38**, 333-335
10. Laboratory Animals 1993. Extracción de Sangre en los Mamíferos y Aves de Laboratorio. Primer informe del grupo conjunto de trabajo BVA/FRAME/RSPCA/UFAW sobre el refinamiento. Artículo original en Inglés publicado en **Laboratory Animals** **27**, 1-22.
11. Bateson P. 1991. Assessment of pain in animals. En Ethics in research on animal behaviour (editado por Dawkins M.S. y Gosling M.) **Animal Behaviour Society**, 13-25.
12. Cuthill, I. 1991. Field experiments in animal behaviour: methods and ethics. En Ethics in research on animal behaviour (editado por Dawkins M.S. y Gosling M.) **Animal Behaviour Society**, 57-64.
13. Elwood, R.W. 1991. Ethical implications of studies on infanticide and maternal aggression in rodents. En Ethics in research on animal behaviour (editado por Dawkins M.S. y Gosling M.) **Animal Behaviour Society** 47-55.
14. Huntingford, F. A. 1991. Some ethical issues raised by studies of predation and aggression. En Ethics in research on animal behaviour (editado por Dawkins M.S. y Gosling M.) **Animal Behaviour Society** 39-46.
15. Still, A.W. 1982. On the number of subjects used in animal behaviour experiments. **Animal Behaviour** **30**(3): 873-880.
16. Underwood A. J. 1997. **Experiments in Ecology. Their Logical Design and Interpretation Using Analysis of Variance**. Cambridge University Press, Cambridge. 430 pp.
17. Stella M. Giannoni, Roberto Mera Sierra, Silvia Brengio y Luis Jimenez Baigorria **Guía para el uso de animales en investigaciones de campo y en cautiverio, Comisión de Ética de la SAREM**. (GIB, IADIZA-CONICET), (Fac. Cs. Médicas, UNC), (IADIZA, CRICYT-CONICET), (Lab. de Medicina Experimental, UNC).