PROTOCOLO PARA TRAMPEO Y PROCESAMIENTO

COLOCACIÓN Y CONTROL DE TRAMPAS

I. EQUIPO Y MATERIALES

Cebo	Jabón de manos	Repelente de insectos
Guantes de goma gruesa	Agua para lavar	Cinta adhesiva blanca para rotular
Trampas Sherman ®	Tablilla para sostener papeles	Marcadores indelebles
Trampas Tomahawk ®	Lápices	Bolitas de algodón (en tiempo frío)
Cinta o bandera deslindadora	Papel	Formularios para control de trampas
Bolso o mochila	Manzanas	Formularios de evaluación del hábitat
Bolsas plásticas para recolección		

NOTA: El siguiente protocolo describe procedimientos para trampeo de remoción de pequeños mamíferos. Trampeo de remoción significa que los roedores capturados no son regresados al sitio de captura. En estos casos, los animales serán sacrificados y se les hará autopsia para obtener muestras de tejidos de órganos para tratar de realizar el aislamiento viral y otros análisis. Suponiendo que el éxito del trampeo sea de alrededor de 15%, un equipo de dos a tres personas pueden colocar, recolectar y procesar las capturas usando 100 a 200 trampas por noche, durante una expedición al campo de cuatro días (tres noches).

II. PROCEDIMIENTO

A. Preparación para la expedición de trampeo

1. Con bastante anterioridad al inicio de la expedición de trampeo, se deberán obtener los permisos necesarios y los protocolos aprobados de uso y cuidado de animales. Habrá que obtener anticipadamente información sobre especies en extinción o protegidas en el área de trampeo y aprender a evitarlas o reconocerlas y liberar a estos animales de la captura. También se contactará a los propietarios de las tierras para obtener autorización para realizar el trampeo.
2. Verificar la integridad y funcionamiento del equipo, incluso los respiradores y filtros, trampas y generador de electricidad (si se usa). Cargar las baterías para los PAPR o balanza electrónica, si se ha de usar este equipo.
3. Preparar cebo. Se obtiene un buen cebo con avena arrollada mezclada con una pequeña cantidad de pasta de maní. Se puede usar la avena sin pasta de maní donde las hormigas constituyan un problema. El grano molido también puede ser un buen cebo de uso general (con o sin pasta de maní).
4. Preparar rótulos preimpresos para crioviales. Aunque los viales pueden rotularse con un marcador indeleble y con mínima información (número de animal, fecha, tipo de tejido), es preferible usar rótulos adhesivos que hayan sido impresos previamente con la información deseada por medio de un programa computarizado para preparar etiquetas. Este método disminuye errores de rotulación, aumenta la información disponible, asegura la legibilidad y ahorra tiempo en el campo. Antes de la expedición de trampeo, pueden imprimirse una o varias hojas de etiquetas para cada tipo de tejido, y el número exacto de viales pueden ser rotulados inmediatamente

antes del procesamiento. Los rótulos deberán ser de calidad criógena, la adhesividad deberá resistir la temperatura del nitrógeno líquido, -196 °C (véase el anexo 7). Se recomienda que en el rótulo se incluya la siguiente información: 1) número único de identificación, 2) tipo de muestra (sangre, hígado, etc.), 3) investigador/proyecto/ fecha (Mills/Zoológico de Atlanta/abril de 1995).

5. Pegar una tira de cinta blanca adhesiva (de aproximadamente 10 cm de longitud) sobre la parte superior del lado más cercano a la puerta de la trampa. Esta cinta puede usarse para numerar las trampas o para registrar el número de línea de trampas o hábitats, cuando se realiza la recolección de los animales capturados.

6. El primer día, cargar el o los vehículos de campo de acuerdo a la lista de control de carga (anexo 1). Todos los equipos deberán estar bien sujetos para evitar que se dañen por derrame o deslizamiento de líquidos. Los agentes , cloroformo, Metofane®, alcohol, formalina y nitrógeno líquido deberán ser empaquetados adecuadamente; en el vehículo deberá llevarse la documentación correspondiente para el traslado de materiales peligrosos (anexo 2).

B. Colocación de trampas

1. Habrá que planificar la salida para llegar al sitio de captura, colocar y cebar todas las trampas antes de que oscurezca. Si las trampas se colocan varias horas antes de la puesta del sol, o se dejan abiertas durante el día, habrá que revisarlas frecuentemente, especialmente en época de calor, para la captura de animales diurnos.

2. Colocar las líneas de trampas en áreas que estén fuera de la vista de caminos, veredas, rutas u otras áreas de actividad humana. Evitar áreas frecuentadas por ganado para evitar que los animales destruyan las trampas o tropiecen accidentalmente con ellas.

3. Indicar el comienzo de cada línea de trampas con un pequeño pedazo de cinta atada y marcada con el número de línea de trampas. En zonas de matorrales, puede ser necesario marcar la ubicación de cada trampa.

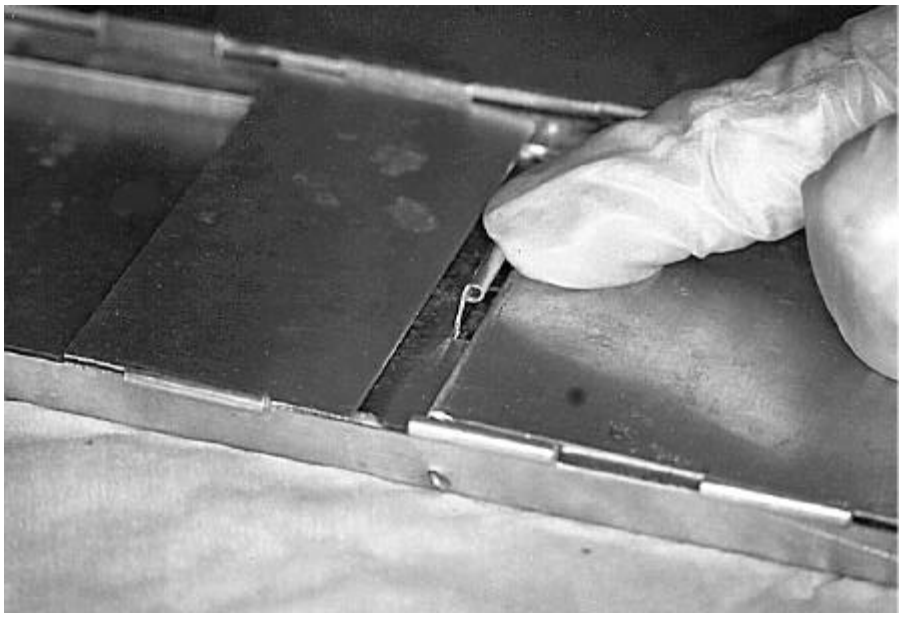


Figura 4. Mecanismo de disparo de trampas de captura viva tipo Sherman®. Tienen una "lengüeta" que sostiene la puerta delantera de la trampa abierta. Si se empuja la lengueta hacia atrás, como se muestra en la foto, aumenta la sensibilidad de la trampa. Para disminuir la sensibilidad, se coloca el dedo detrás de la lengüeta y se tira hacia adelante.

a intervalos de aproximadamente 5 m. Mantener intervalos constantes entre las trampas para que sea más fácil ubicarlas a la mañana siguiente.

Llevar en un bolso o mochila las trampas necesarias para la línea, caminar la línea de trampas colocando cada una lo más niveladamente posible, con la boca a nivel del suelo. La tierra puede removerse y nivelarse raspándola con el pie. Al colocar cada trampa, se controlará el mecanismo disparador (figura 4) para comprobar su ajuste y sensibilidad.

6. Cuando sea posible, colocar las trampas cerca de pilas de leña, troncos caídos, madrigueras, autos abandonados u otros lugares que provean refugio. Cuando se colocan trampas dentro o cerca de las viviendas, se pondrán paralelamente a las paredes u otras superficies verticales, en armarios, detrás

de aparatos y muebles, y sobre estantes más altos que el piso, prestando especial atención a las áreas donde haya evidencias de actividad de roedores.

7. Colocar cada línea de trampas en un solo tipo de hábitat (casa, alambrado, pastura, forestación de pinos).
8. En climas o estaciones calurosas, evitar colocar las trampas de manera que queden expuestas al sol directo. Si esto es imposible, las trampas pueden cubrirse con una tabla o con una lona. Si las temperaturas son muy bajas, colocar dos bolitas de algodón en cada trampa para que sirvan de nido durante la noche.
9. Después de colocar la última trampa, marcar el fin de la línea con otro pedazo de cinta y regresar a lo largo de la línea de trampas, arrojando una pequeña cantidad (aproximadamente una cucharada de té) de cebo dentro de cada una.
10. Después de finalizar cada línea de trampas, completar las primeras tres columnas del formulario de control de trampas (anexo 3) e incluir el número de cada tipo de trampas colocadas en cada línea.
11. Completar el formulario de evaluación del hábitat (anexo 4) para cada línea de trampas o grupo de líneas de trampas en un hábitat distinto. Cuando esté disponible, usar un sistema de posición global (GPS, del inglés *Global Positioning System*) para registrar la latitud y longitud exactas.
12. Si es necesario conocer el sitio exacto de captura de un roedor específico, es bueno tener un esquema del sitio de trampeo y de la ubicación de las líneas de trampas. La ubicación del sitio de trampeo puede registrarse sobre un mapa topográfico local usando, si es posible, un GPS.

C. Recolección de roedores capturados

1. Las trampas deberán revisarse lo más temprano posible en la mañana, especialmente en tiempo cálido y cuando

2. Los miembros del equipo deberán usar ropa protectora, incluso pantalones largos y camisa de manga larga, medias, zapatos pesados y guantes de goma gruesa (figura 2). Cada persona deberá llevar un marcador indeleble y papel para tomar notas.
3. Cada miembro del equipo de campo deberá controlar las trampas que él o ella haya colocado para obtener una mayor eficiencia y reducir la pérdida de trampas.
4. Revisar cada trampa para ver si hubo captura o si fue visitada. Si una trampa parece haber sido visitada, pero no ha saltado (contiene orina, materia fecal o material de nido), colocar la trampa en doble bolsa plástica para ser descontaminada y verificar su funcionamiento adecuado. Reemplazar la trampa por una limpia.
5. Cuando la trampa se encuentre con la puerta cerrada, se alzará sin sacudirla. De pie, con el viento del lado izquierdo o derecho y la trampa tomada a una distancia igual al largo de un brazo, empujar suave y cuidadosamente la puerta para confirmar la presencia de un roedor capturado. Si no hay captura y no hay evidencia de visita, controlar el ajuste de la trampa y volverla a poner en la línea correspondiente. Si se captura una especie distinta de la que se buscaba (sapo, pájaro, especie protegida) cuidadosamente liberar al animal en el sitio de captura y luego volver a colocar la trampa o colocarla en una bolsa para descontaminación.
6. Si la trampa contiene una especie de interés, en la cinta que se puso sobre la trampa indicar el número de línea de trampa (o hábitat de captura, si no se está usando el anexo 4). Cuidadosamente colocar la trampa en una bolsa plástica para cerrarla. Luego, colocar la trampa embolsada dentro de una segunda bolsa plástica y cerrar esta última (figura 2). Colocar la trampa doblemente embolsada en el suelo (a la sombra en tiempo cálido) para recogerla al regreso, y continuar revisando el resto de la línea de trampas.

7. Después de completar la línea de trampas, llevar los animales capturados al vehículo y completar el formulario de recuento de trampas, incluso el número de capturas en cada tipo de trampa, número de trampas que saltaron

8. Colocar los roedores capturados en bolsas plásticas en un área fría, a la sombra, hasta que todas las líneas de trampas hayan sido revisadas. No se deben reabrir las bolsas plásticas una vez que se han cerrado con un nudo. Las bolsas pueden abrirse para permitir que le circule aire a los animales, solamente después de que los técnicos se hayan puesto el equipo completo de protección en el sitio de procesamiento.

9. Si el éxito de trampeo fue razonable (10% o mejor), las trampas pueden dejarse en el mismo lugar por una segunda noche; en caso contrario, pueden colocarse en otro lugar.

NOTA: Si las trampas se dejarán en el lugar por una segunda noche, deberán mantenerse cerradas durante el día o revisarse periódicamente (al mediodía y antes de que oscurezca o más frecuentemente si las trampas están expuestas al sol o si hace calor) por si han capturado animales diurnos, como ardillas. Si es posible, estos animales deberán ser procesados inmediatamente. De lo contrario, se les puede proveer comida húmeda (un pedazo de manzana), guardarlos durante la noche (al aire libre, lejos de la gente) y procesarlos al día siguiente. Si es necesario, las trampas deberán ser cebadas nuevamente cuando se realiza la revisión en la

10. Colocar las bolsas plásticas que contienen los roedores capturados en la parte posterior del vehículo de campo y transportarlos directamente al sitio de procesamiento, teniendo cuidado de no exponer a los animales al sol.

11. Después de colocar a los animales en el vehículo, lavar los guantes de goma minuciosamente con jabón y agua, luego sacar los guantes y lavar las manos desnudas con agua y jabón.

PROCESAMIENTO DE ROEDORES CAPTURADOS

I. EQUIPO Y SUMINISTROS

Metofane®

Ketamina:xilazina

, calidad industrial

Alcohol isopropílico o etanol 70%

Botella de plástico blando

Nitrógeno líquido o heladera y

Recipiente de boca ancha

Respiradores/anteojos

Vestimenta descartable

Sillas o banquetas

Bolsas con cierre hermético

Bolsas con cierre hermético

Rótulos: Sangre
Bazo
Riñón
Pulmón

Cuadrados de gasa estériles

Regla milimétrica

Tubos capilares heparinizados

Recipiente para material punzante

Tijeras de disección de punta roma

Pinzas de punta roma

Bandeja de instrumental

Crioviales (2 ml)

Gradilla para crioviales

Botella pulverizadora

Mechero de alcohol

Tabla con sujetapapeles

eringas de 1cc y 3cc

Agujas 22g, 3,75 cm

Pinzas de 30 cm de largo

Lapicera de tinta permanente

Cajas de congelador para muestras

Cepillo de mango largo (para trampas)

Cepillo para limpiar (instrumental

Guantes de goma gruesa

Recipiente grande (para agua)

Bolsas de basura grandes (4 L)

Bolsas de peligro biológico

Cinta de autoclave

Estuche o equipo de primeros auxilios

Guía de mamíferos

Baúl para equipos

II. PROCEDIMIENTO

A. Selección del sitio de procesamiento

1. Seleccionar un sitio de procesamiento que esté relativamente apartado, fuera de la vista de cualquier actividad humana y que no esté cerca de ganado u otros animales. Es preferible que sea al aire libre. Se puede montar una simple lona para proteger a los técnicos del sol o la lluvia. Si está extremadamente frío o muy ventoso, puede usarse un sitio bajo techo. Tal sitio deberá ser apartado, tener pisos que se puedan fregar fácilmente con desinfectante para descontaminarlos, y tener un ventilador de extracción o ventanas para ventilación cruzada.
2. Establecer el área de procesamiento con los artículos detallados en la lista de verificación (figura 5; anexo 5).
3. Todo el personal que participa en la manipulación de roedores o trampas deberá usar ropa protectora completa, incluso vestimenta descartable u overol (preferentemente descartable), cubrebotas descartables, dos pares de guantes de látex, anteojos de seguridad y respirador de media cara o respirador con fuente purificadora de aire equipada con filtros HEPA (figura 3). El personal que no esté participando en el procesamiento y no esté usando respiradores, deberá permanecer contra el viento y al menos a 10 metros del área de procesamiento. Si el procesamiento se hace bajo techo, el personal que no esté usando respiradores no deberá entrar a la habitación hasta que el trabajo haya finalizado, las superficies de trabajo hayan sido descontaminadas, los descartables contaminados se hayan guardado adecuadamente, y la habitación se haya ventilado por 30 minutos.

B. Obtención de sangre de los roedores capturados

1. Para aumentar la eficiencia, al menos dos técnicos deberán participar en el procesamiento. Se podrán dividir entre el personal tareas tales como la anestesia, el sangrado, el pesaje y medición, la autopsia, el almacenamiento de especímenes, el registro de datos y la descontaminación de trampas.



Figura 5. La mesa de procesamiento deberá estar preparada completamente, segun se indica en el anexo 5, antes de sacar de la trampa al primer animal capturado.



Figura 6. Transferir el animal capturado desde la trampa a la bolsa de anestesia mediante una sacudida.



Figura 7. Pesar al animal lo mas próximo posible al gramo usando una balanza Pesola â.

2. Después de que todo el personal se haya puesto todo el equipo de protección, se podrán abrir las bolsas plásticas que contienen las trampas con los animales capturados.

3. Colocar un trozo de algodón o gasa empapado en Metofane®, dentro de la bolsa plástica de anestesia (funciona muy bien una bolsa de cierre hermético de 30 cm x 30 cm) y sellar la bolsa.

4. Sacar la trampa que contiene el animal de su bolsa plástica. Registrar en la planilla de registro de autopsia el número de línea de trampa o hábitat de captura que figura en la trampa (anexo 6).

5. Envolver la abertura de la bolsa de anestesia alrededor de la boca de la trampa con la mano por fuera de la bolsa, empujar la puerta de la trampa de modo que quede totalmente abierta hacia adentro de la bolsa plástica; con un fuerte sacudón hacia abajo, arrojar el animal capturado dentro de la bolsa y sellarla (figura 6).

6. Observar al animal hasta que esté inmóvil y no responda al estímulo. Luego, sacarlo de la bolsa, sellar la bolsa y colocar el animal sobre una superficie limpia (dos capas de toalla de papel blanco pueden funcionar bien) para el procesamiento.

NOTA: Es difícil expulsar a los animales de las trampas de malla de alambre, tales como las Tomahawk®. Los animales capturados en estas trampas pueden ser anestesiados colocando la trampa entera en una bolsa plástica grande y limpia que contenga una gasa o algodón empapado en anestésico. Otra posibilidad es insertar una pinza larga a través de la malla de la trampa para pescar la piel del animal e inyectar ketamina:xilazina (10:1) con jeringa y aguja. Una dosis adecuada para ratón es de 0,02 a 0,05 cc (20 a 40 g) y 0,1 a 0,3 cc para ratas (200g a 400g).

7. Antes de tomar una muestra de sangre, se pesará rápidamente al animal con una balanza Pesola (figura 7) de medida apropiada para el tamaño, o una balanza electrónica de funcionamiento a pila. Es suficiente el dato de

8. Realizar el sangrado retroorbitario.

NOTA: Este procedimiento funciona muy bien con los ratones; para las ratas grandes o ratones campestres, esto requiere alguna práctica adicional:

a. Mirando la superficie dorsal del roedor, colocar el dedo pulgar de la mano izquierda (derecha para los zurdos) sobre la parte superior de la cabeza y el dedo índice bajo la garganta. Apretar juntos el índice y el pulgar para deslizar la piel hacia la izquierda de modo que quede tirante del lado derecho de la cabeza del animal y deje al descubierto el globo ocular (figura 8a). Se deberá tener cuidado de no causar colapso de la

b. Introducir la porción terminal del tubo capilar heparinizado en la esquina posterior del ojo (canto lateral), detrás del globo ocular (figura 8b). Puede servir de blanco una almohadilla blanca de grasa ubicada detrás del ojo. El tubo deberá estar perpendicular a la cara del roedor y deberá inclinarse hacia abajo en dirección a









Figura 8. Sangrado retroorbital: (a)deslizar la piel hacia un lado de la cara del animal. (b)insertar el tubo capilar en la esquina posterior del ojo. (c)permitir que la sangre fluya a través del tubo capilar y gotee dentro del criovial; (d) apretar el ojo con una gasa para frenar el sangrado.

un criovial abierto y rotulado. Cuando el tubo capilar alcanza la parte posterior de la órbita y se palpa el hueso, rotar un poco el capilar contra el hueso para romper las vénulas y para que empiece a fluir la sangre.

c. Retirar el tubo suavemente alejándolo del hueso, para permitir que la sangre entre al tubo sin obstrucción. Si la sangre no fluye, repetir el paso b.

d. Cuando la sangre comienza a fluir dentro del tubo capilar, colocar la parte libre del tubo sobre la boca de un criovial para permitir que la sangre gotee dentro del vial (figura 8c). Si el flujo de sangre ensucia el tubo o la cara del animal, retirar el tubo delicadamente para limpiar la obstrucción de la entrada. Puede ser necesario rotar el tubo ocasionalmente o moverlo hacia adentro y afuera del seno para mantener el flujo de sangre. Si el flujo se bloquea a la entrada por un coágulo, retirar el tubo, colocarlo dentro del criovial y sangrar con un tubo limpio. Continuar colectando la sangre hasta que el flujo cese o hasta que se haya obtenido la cantidad de sangre deseada. Se puede obtener un volumen de 0,5 ml de sangre de los roedores sanos.

e. Sacar el tubo capilar del ojo y colocarlo temporalmente dentro del criovial.

f. Soltar la presión sobre la piel y, con un pequeño pedazo de gasa estéril, apretar por unos segundos cerrando el ojo afectado para detener el sangrado y sacar el exceso de sangre del área (figura 8d). Descartar la gasa en una bolsa de bioseguridad.

g. Suavemente tocar el tubo capilar contra la pared del criovial para extraer la mayor cantidad de sangre posible. No se debe tratar de expulsar el resto de la sangre con una bomba de goma o jeringa, ya que esto puede generar aerosoles infecciosos. Descartar el tubo capilar en el recipiente para material punzante.

h. Colocar la tapa sobre el criovial y cerrar bien. Si se derramó algo de sangre sobre el vial, limpiarlo con una toalla de papel y desinfectante.

NOTA: En lugar de tubo capilar puede usarse una pipeta de vidrio tipo Pasteur. Antes de su uso, la pipeta deberá recubrirse (en su interior) con heparina. Después de sangrar, dejar que la sangre de la pipeta drene dentro del criovial o, si es necesario, la pipeta puede vaciarse al aplicar presión suave con una bomba de goma o jeringa, evitando la formación de burbujas o espuma y dejando los últimos milímetros de sangre dentro de la pipeta para evitar la creación de aerosoles.

9. Si no se puede realizar el sangrado ocular, hacer la punción cardíaca:

   a. Colocar una aguja de 3,75 cm y 22 g a una jeringa de 1 ó 3 cc; soltar el cubreaguja y probar el émbolo para ver que si se desplaza suavemente.

Cubrir, por aspiración, el interior de la jeringa con heparina y luego volver la heparina al recipiente.

Colocar el animal sobre una superficie plana, con la parte ventral hacia arriba. Mojar el abdomen y el tórax con alcohol y limpiar con una gasa limpia. La posición del latido del corazón puede ubicarse frecuentemente al tocar con el dedo índice.

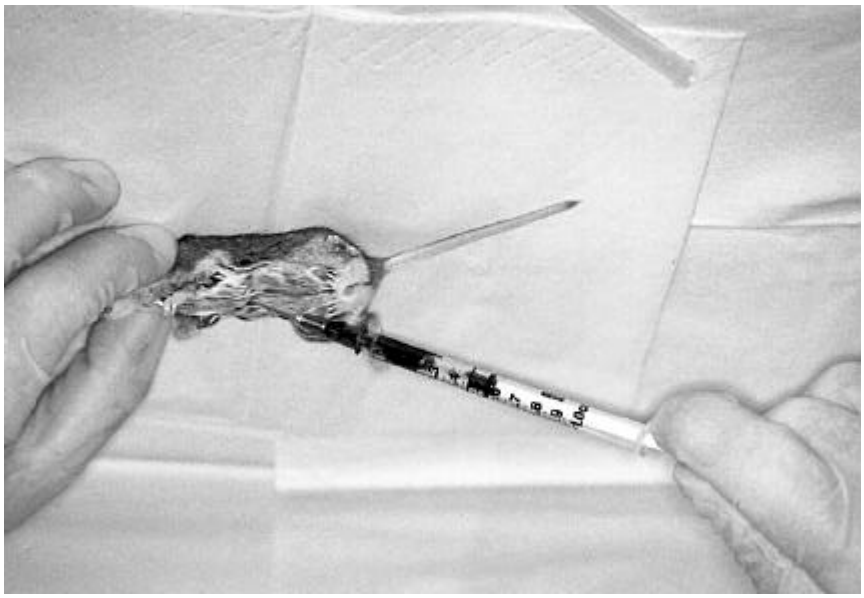


Figura 9. Punción cardíaca: posición adecuada del animal y la jeringa.



Figura 10. Descarte de jeringa y aguja en recipiente de paredes rígidas; no recubrir la aguja.

Con el dedo índice de la mano izquierda, ubicar la protuberancia xifoidea. Con la jeringa en la mano derecha, insertar la aguja justo debajo de este punto y retirar el émbolo suavemente para crear un ligero vacío. Continuar presionando la aguja dentro de la cavidad torácica en un ángulo de 20° sobre la horizontal, hasta que se penetre al corazón y la sangre comience a fluir. Retirar el émbolo lentamente hasta que la jeringa se llene, manteniendo un ligero vacío (figura 9). Si antes de que se haya obtenido suficiente sangre el flujo cesa, retirar la aguja suavemente (la aguja puede haberse atravesado por la parte de atrás del corazón) o ajustar la posición de la aguja hasta que se restablezca el flujo de sangre.

e. Cuando se haya obtenido un volumen de sangre suficiente, soltar la presión negativa sobre el émbolo y retirar la aguja de la cavidad torácica. Sin sacar la aguja, suavemente expeler la sangre dentro de un criovial rotulado y descartar la jeringa y aguja dentro del recipiente para material punzante **sin** colocar el cubreaguja plástico (figura 10). Enroscar debidamente la tapa del criovial y limpiar con una toalla de papel o gasa y desinfectante cualquier derrame de sangre sobre el mismo.

10. Obtención de muestra de sangre de roedores muertos

NOTA: Se puede obtener una pequeña cantidad de sangre del corazón de un animal que haya muerto durante la manipulación, si es que ha sido recientemente capturado con trampa guillotina. Se toman los siguientes pasos:

a. Abrir la cavidad torácica con una tijera de punta roma.

b. Abrir el corazón con una segunda tijera estéril.

c. Aspirar la sangre que fluya del corazón o de pozas de sangre de la cavidad torácica con una pipeta Pasteur® (recubierta de heparina) con una bomba de goma o con una micropipeta con punta descartable; cuidadosamente expulsar la sangre dentro de un criovial rotulado.

O:

a. Escribir el número del animal sobre una tira de papel de filtro (tipo tira Nobuto) (Anexo 7).

b. Abrir la cavidad torácica y cortar el corazón como se describió.

c. Sumergir la tira de papel de filtro en la poza de sangre o dentro del tejido del corazón. Tratar de absorber suficiente cantidad de sangre para cubrir la porción inferior, angosta, de la tira.

d. Dejar que las tiras de papel se sequen al aire completamente.

e. Las tiras pueden ser embaladas en doble bolsa de cierre hermético y enviadas en una caja firme.

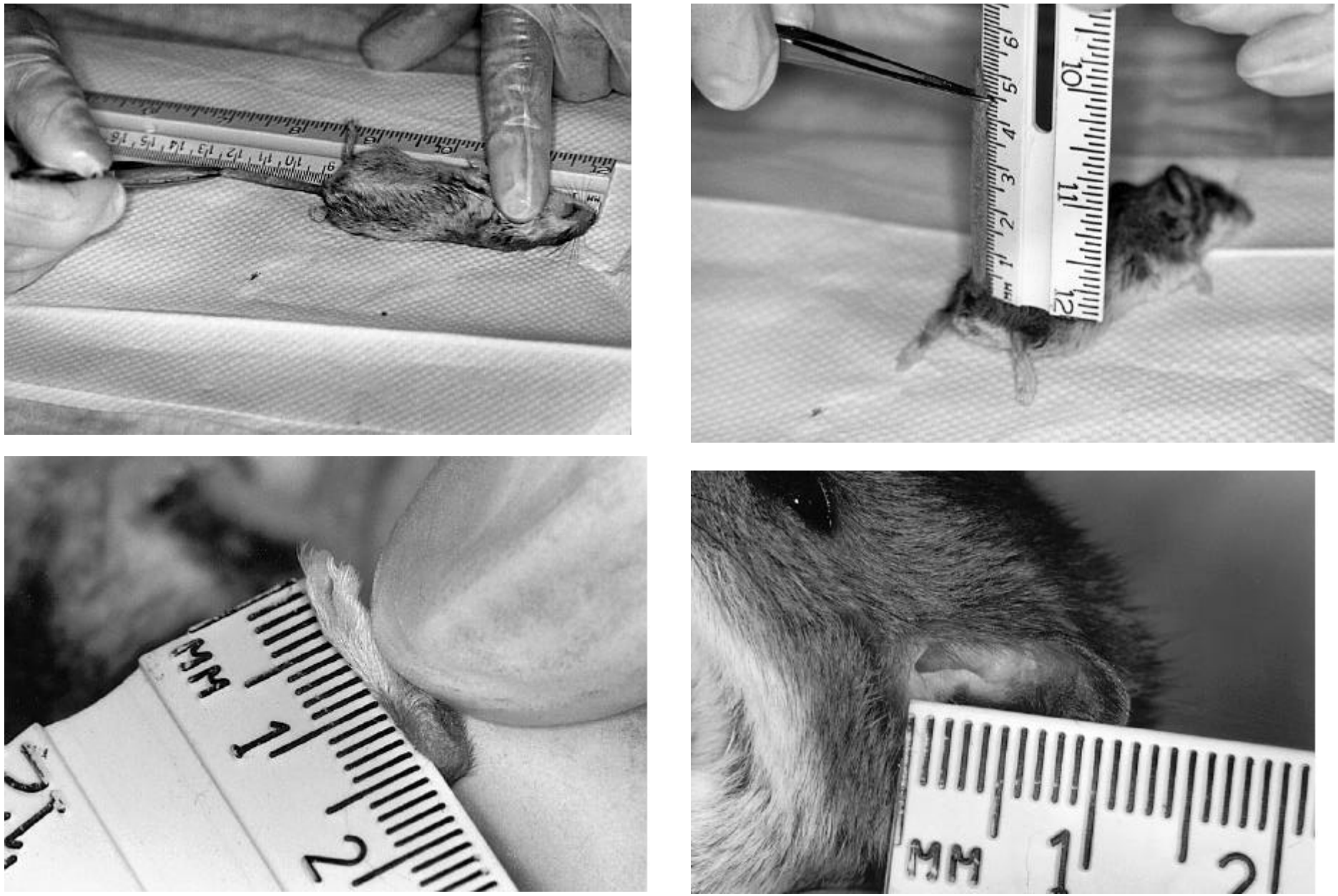


Figura 11. Medidas estándar: (a) largo total; (b) cola; (c) pata derecha trasera; (d) oreja.

NOTA: Dejar que las tiras de Nobuto ®se sequen solamente a temperatura ambiente y evitar que se toquen unas con otras hasta que estén completamente secas. Guardar las tiras en una heladera antes de enviarlas. Si se está usando un gran número de tiras, se pueden colgar de un hilo para facilitar su conservación y mantenerlas en orden para registrarlas en el laboratorio.

C. Obtención de datos reproductivos y medidas estándar de roedores

NOTA: Los datos deberán compilarse en formularios y registrarse en un documento estandarizado, como el del Anexo 6.

1. Anotar el sexo y la condición reproductiva del animal. Para los machos, los testículos pueden haber descendido dentro del escroto o ser abdominales. Para las hembras, la vagina puede estar perforada o cerrada. Los pezones pueden ser pequeños o estar agrandados, y distinguirse entre lactantes o no lactantes (esto se determina apretando suavemente un pezón entre el pulgar y el dedo índice).
2. La edad del animal puede registrarse (subjetivamente) según las medidas y características de pelaje como juvenil, adulto joven o adulto. En el anexo 6, la edad podría registrarse en la sección de comentarios.
3. Largo total: Colocar el animal sobre una superficie con la parte ventral hacia arriba y sostenerlo de modo que el cuerpo y la cola estén derechos y tirantes pero no estirados. Medir la distancia desde la punta de la nariz a la punta de la parte carnosa de la cola; excluir cualquier pelo que se proyecte más allá de la punta (figura 11a).
4. Largo de la cola: Colocar el animal con la parte ventral hacia abajo y doblar la cola hacia arriba en un ángulo recto. Medir desde la curvatura de la base posterior de la cola hasta la punta de la parte carnosa, excluir los pelos que se proyectan más allá (figura 11b).
5. Pata posterior derecha: Con el animal tendido con la parte ventral hacia arriba, colocar el dedo índice sobre la superficie dorsal de la pata y el pulgar sobre la superficie plantar y sostener la pata de modo que el tobillo forme un ángulo recto perfecto. Medir la distancia desde la parte de atrás del “talón” la punta más larga de la parte
6. Oreja: Insertar la punta de una regla en la muesca de la base de la oreja y medir el largo máximo a la porción distal del pabellón de la oreja (apariencia media); excluir los pelos que se proyectan más allá de la porción carnosa (figura 11d).
7. Registrar la presencia de cualquier cicatriz que haya en el cuerpo, especialmente en las orejas y la cola. Esto puede ser indicativo de encuentros agresivos entre roedores.
8. Mirar y anotar la presencia de ectoparásitos, tales como ácaros, garrapatas, pulgas o moscardones.



Figura 12. En un animal pequeño, profundamente anestesiado, puede realizarse eutanasia en forma rápida y sin dolor por dislocación cervical.

D. La autopsia de los roedores capturados

1. Si el animal no murió durante el sangrado, se deberá realizar la eutanasia antes de la autopsia. Este procedimiento puede hacerse por medio de una sobredosis de anestesia, colocando el animal en una cámara con una fuente de dióxido de carbono (hielo seco), o por

dislocación cervical. Para realizar la dislocación cervical, colocar al animal profundamente anestesiado con su parte ventral hacia la mesa. Tomar con una mano un objeto como un lápiz y colocarlo firmemente a través de la parte posterior de la nuca; con la otra mano tomar la cola y tirar bruscamente hacia arriba y hacia atrás (figura 12). Esta técnica realizada con animales profundamente anestesiados resulta en una muerte rápida y sin dolor. Para matar roedores grandes, tales como ratas, se administrará una sobredosis de anestesia o dióxido de carbono.



Figura 13. Flamear tijeras y pinzas en un mechero de alcohol antes de usarlas.

2. Flamear sobre un mechero de alcohol la tijera y la pinza (figura 13) y colocarlas sobre una gradilla de modo que la porción esterilizada no toque ninguna superficie.
3. Colocar el animal sobre una toalla de papel con su parte ventral hacia arriba. Limpiar la superficie ventral con una almohadilla de algodón o con un chorro de alcohol de una botella de presión y limpiar con un cuadrado de gasa.
4. Pellizcar y levantar la piel de la parte baja del abdomen con los dedos o la pinza. Colocar la tijera por debajo del pellizco y, con un simple tijeretazo, cortar la piel y la musculatura abdominal (figura 14). Insertar una hoja de la tijera en la incisión y hacer uno o dos cortes en forma de "V" sobre cada lado de la pared abdominal; retraer la piel cortada y la musculatura mas allá del diafragma para exponer completamente la cavidad abdominal.
5. Colocar la tijera usada en la bandeja con Lysol ®.
6. Sostener el animal con la mano izquierda (para una persona diestra) con el dedo pulgar o índice sobre la parte superior del tórax y llevar el colgajo de piel de adentro hacia afuera, de modo que al arquearse la espalda los órganos queden expuestos y un poco sobresalidos (figura 15).
7. Con una pinza estéril de punta roma y sin dientes, levantar el estómago para poder ver el bazo. Tomar el bazo con la pinza y suavemente tirar para desprenderlo del tejido conjuntivo. No será necesario cortarlo. (No usar la tijera nuevamente una vez que se haya usado para entrar en la cavidad del cuerpo.) Colocar el bazo dentro de un criovial estéril rotulado.
8. Con la misma pinza, tomar los riñones uno por vez, y tirar para desprenderlos (figura 15); colocarlos dentro de un segundo criovial.
9. Tomar con la pinza el diafragma y separarlo para brindar un acceso más claro a la cavidad torácica.
10. Tomar y sacar el corazón. Este puede guardarse en otro criovial o puede simplemente extirparse para proveer acceso más fácil a los pulmones.

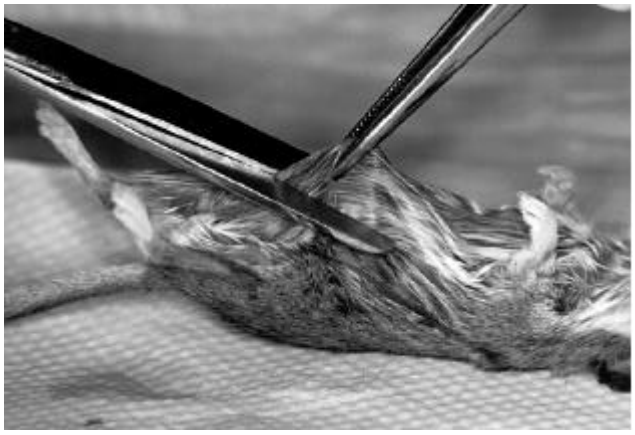


Figura 14. Para realizar la incisión, pellizcar y levantar la piel y la musculatura de la parte inferior del abdomen.

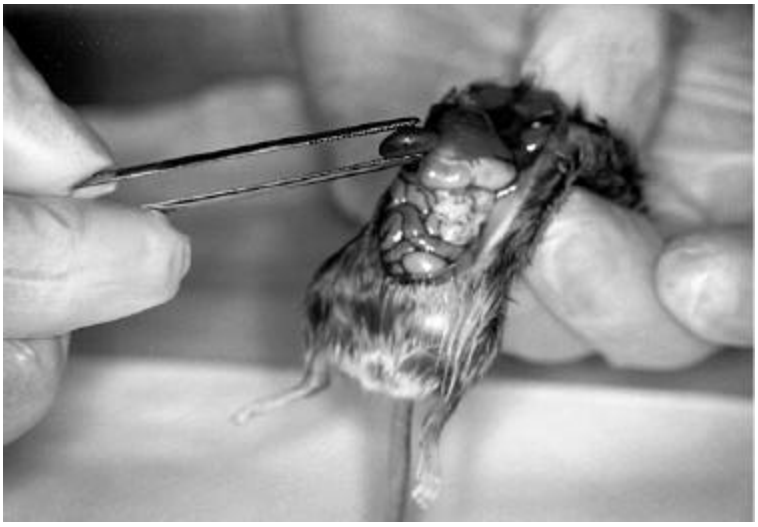


Figura 15. Empujar la piel hacia atrás y arquear el animal de modo que los órganos queden expuestos para extraerlos; tomar el órgano con la pinza y tirar suavemente del mesenterio sin cortar.

11. Colocar la pinza bajo los pulmones en el ápice de la cavidad torácica y tomar los pulmones y la tráquea. Sacar todo este tejido con un movimiento hacia arriba y hacia atrás y colocarlo dentro de un criovial rotulado. En el caso de especies grandes, puede bastar con tomar solamente una parte del pulmón.

12. Con la pinza, tomar una porción de hígado de medida adecuada que quepa dentro del criovial. (No se debe recoger la vesícula biliar con el hígado y habrá que evitar romperla, para no liberar enzimas en la muestra.)

13. Colocar las pinzas usadas en la bandeja con Lysol®.

NOTA:

14. Colocar bien ajustada la tapa de todos los crioviales, rociar los crioviales con desinfectante y limpiar cualquier resto de sangre o tejido del exterior del criovial. Colocar en hielo seco o nitrógeno líquido los crioviales que contienen sangre y tejidos (figura 16), y guardarlos ordenadamente por tipo

15. Si se desea, en este momento se pueden registrar otros datos adicionales reproductivos, por ejemplo, el número de embriones y largo desde la cabeza a la cadera; presencia o ausencia de heridas uterinas; largo y ancho de los testículos; condiciones del epidídimo (cuando se observa bajo una lupa, un epidídimo enrollado indica maduración espermática, liso indica que el roedor es sexualmente inmaduro).



Figura 16. Colocar las muestras de los animales en hielo seco o en nitrógeno líquido hasta que puedan ser transferidas a

16. Si se conserva el cadáver del animal, se deberá colocar un rótulo en la pata con el número del animal, sexo, especie y fecha de captura.

NOTA: Los rótulos deberán ser de tela adhesiva o de papel de buena calidad, resistente a la formalina y al alcohol. Deberán atarse con un hilo fuerte, blanco, de algodón mercerizado, de medida 10 a 12. Los datos deberán anotarse con tinta india negra permanente o, si no se dispone de ella, con un lápiz duro de grafito (por ej. No. 4). Los rótulos pueden ser escritos y atados con hilo antes de iniciar el procesamiento.

17.Atar firmemente el rótulo a la pata derecha trasera arriba del tobillo. Debido a que el hilo puede enredarse durante la conservación, atar el rótulo lo más cerca posible de la pierna. Colocar el animal dentro de un recipiente con formalina al 10% y ajustar bien la tapa del recipiente.

NOTA: Si los animales no han sido abiertos para sacar muestras de tejidos, deberá hacerse un corte de la parte inferior

18. Colocar las toallas de papel que fueron usadas como

superficie de disección dentro de una bolsa de seguridad biológica. Desinfectar las superficies de trabajo y los guantes con Lysol ® y colocar las toallas de papel en una bolsa de seguridad biológica.

19. Repetir los pasos 1 a 18 con cada animal.

NOTA: Si bien es mejor tomar muestras de animales capturados vivos, también es posible tomar muestras de animales que hayan muerto recientemente en trampas guillotina. En ese caso, los tejidos deberán sacarse en un plazo de dos horas a partir de la captura o antes si la temperatura es de más de 21º C (70º F). Los órganos se pueden sacar de la misma manera que de animales vivos. Es posible obtener una pequeña cantidad de sangre de los roedores que hayan muerto recientemente, como se describió en párrafos anteriores (B.10).

E. Descontaminación de las trampas

1. Preparar un balde plástico de 20 litros que contenga aproximadamente 15 litros de Lysol ® de calidad industrial en una dilución 1:20 y 2 baldes de 20 litros con agua limpia para enjuagar.



Figura 17. Un cepillo de inodoro es una herramienta excelente y económica para limpiar la suciedad de los animales y otros desechos de las trampas. Después de

2. Luego de sacar al animal de la trampa para anestesiarlo, colocar la trampa, con la puerta abierta, en el balde con Lysol ®. Sacar con un cepillo la materia fecal, material de anidado o cebo de la trampa (figura 17); remojar la trampa en el desinfectante mientras se procesa el animal.

3. Después de anestesiar al segundo animal, sacar la primera trampa del baño de Lysol y colocarla en el primer balde de enjuague. Colocar la segunda trampa en Lysolâ y limpiarla con el cepillo. A medida que se van procesando los animales se transfieren las trampas desde el Lysolâ al primer y segundo enjuagues. Finalmente se coloca la trampa limpia a secar al aire y al sol.

NOTA: Al manipular las trampas, se usarán guantes de goma gruesa sobre los guantes de látex para evitar que los últimos se rompan con las superficies cortantes de la trampa (figura 17).

4. Cuando los baños de Lysol® o los enjuagues comienzan a ensuciarse con desechos de las trampas, se debe eliminar el líquido usado y preparar un nuevo baño. Esto puede hacerse cada 15 a 30 trampas, dependiendo de la limpieza de las mismas.

F. Limpieza

1. Al finalizar el procesamiento del último animal, colocar todos los materiales contaminados, toallas de papel, bolsas plásticas, algodón, coberturas de las mesas y bolsas de anestesia en la bolsa de bioseguridad, la cual se cierra y sella con cinta de autoclave.

2. Si se trabajó en un ambiente cerrado, habrá que abrir las ventanas o prender un extractor para ventilar el área.

3. Limpiar con desinfectante todas las superficies de trabajo, mesa y sillas y todo el equipo de procesamiento que se encuentra sobre la mesa (balanza, mechero de alcohol, marcadores, e incluso la botella pulverizadora de Lysol ®).

4. Preparar en una bandeja Lysol ®fresco al 5% y, con un cepillo de cerda dura, limpiar minuciosamente todos los instrumentos usados en la disección (figura18). Dejar secar al sol y al aire o secarlos a mano antes de guardarlos.

NOTA: Las técnicas moleculares modernas, como la reacción en cadena de la polimerasa, son tan sensibles que pueden dar resultados positivos falsos cuando una mínima cantidad de ácido nucleico viral o del huésped se traspasa a las muestras subsiguientes.

5. Eliminar el Lysol ®usado enterrándolo o vertiéndolo en un desagüe con abundante agua.

6. Sacarse los guantes externos, luego los cubrebotas, la vestimenta y los guantes internos; colocarlos en otra bolsa de bioseguridad y sellarla.

7. Sacarse los respiradores.

8. Lavarse las manos con jabón y agua.

9. La basura contaminada, incluso el recipiente con material punzante, deberá entregarse a un laboratorio u hospital local para descartarlo de acuerdo con las normas locales y estatales.

G. Envío de muestras para pruebas de hantavirus



NOTA: Las muestras deberán ser embaladas de acuerdo con las regulaciones de la Asociación de Transporte Aéreo Internacional para materiales peligrosos, Instrucción de embalaje 650. Al momento de la impresión de este manual, la edición en uso era la número 36, que entró en vigencia en Junio de 1995 (Anexo 8).

1. Las muestras de tejido deberán guardarse a hasta su envío, y las muestras de sangre, a -20 ºC si solamente se van a usar para búsqueda de anticuerpos. Las muestras de sangre también deberán ser guardadas a -70 ºC si se van a usar para aislamiento viral.

2. Antes de enviar cualquier muestra para análisis, habrá que contactar al laboratorio correspondiente para obtener autorización.

3. Las muestras contenidas en los crioviales deberán estar claramente rotuladas con el número único de roedor y el tipo de muestra (sangre, pulmón, riñón, etc).

4. Las muestras deberán ser ordenadas por tipo de tejido y dispuestas en cajas para congelador en orden numérico (figura 19).

5. Embalar las cajas de congelador en bolsa gruesa, doble, con cierre hermético. El interior de la bolsa deberá contener suficiente material absorbente (por ejemplo, toallas de papel) para recoger cualquier fluido proveniente de rotura o pérdida del recipiente primario.

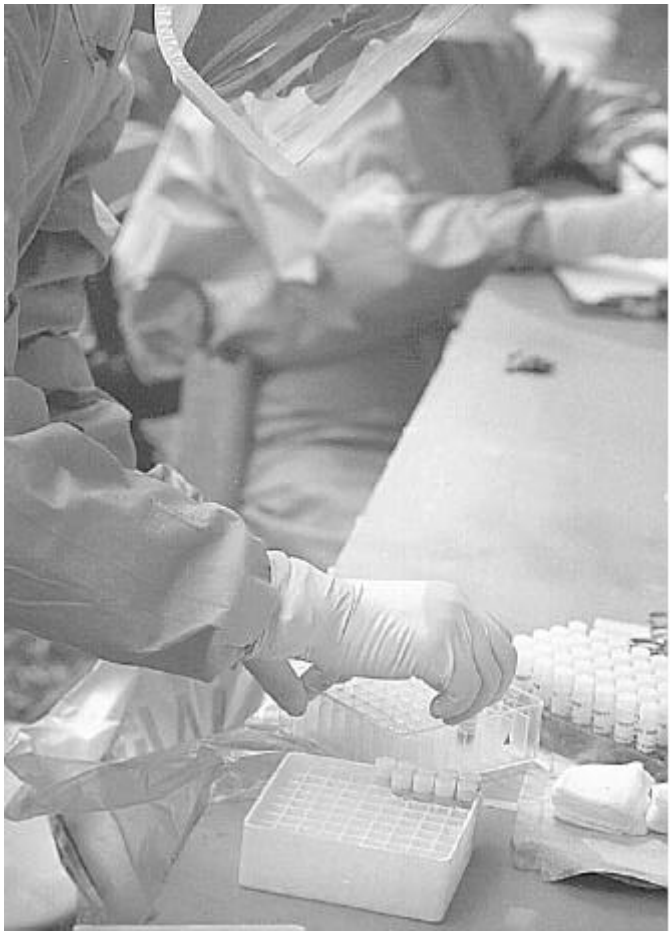


Figura 19. Los crioviales rotulados deberán ser ordenados por tipo de tejido y orden numérico en cajas de congelador para su conservación o envío.

durante el fin de semana.

12. Con cada despacho, se incluirá una lista o un disquete de computadora con la información del embalaje. El mínimo de información que se necesita para cada muestra es: número único de animal, fecha de captura, sitio de captura, especie y tejidos enviados (sangre, pulmón, riñón, etc.).

13. Si las muestras van a ser enviadas a los CDC, dirigirlas a:
    CDC, Attn: SPB, DVRD
    c/o DASH, Bldg. B35
    1600 Clifton Road
    Atlanta, GA 30333
    Teléfono: (404) 639-1115

14. Notificar al laboratorio que las muestras están siendo despachadas e informar sobre la fecha de llegada, el itinerario u otra información para el seguimiento del envío.

H. Preparación de especímenes y archivo

NOTA: Es muy importante que un museo confirme la identificación específica de pequeños mamíferos y contar con especímenes certificados para futura referencia. Los arreglos deberán realizarse por adelantado con el departamento de mamalogía del museo o universidad para que este acepte, identifique y archive los especímenes. El museo puede tener otros requisitos en cuanto a la rotulación, preservación o despacho de

muestras, que no sean las presentados aquí. Pueden realizarse variaciones, pero, por razones de seguridad, no se debe acortar el tiempo de fijación de siete días.

1. Dejar los cadáveres en formalina al 10% durante siete días antes de manipularlos.
2. Si los cadáveres se van a guardar por más de siete días antes de enviarlos al museo o si van a ser conservados por largo tiempo, se seguirá el siguiente proceso: después de siete días en formalina, se enjuagarán los cadáveres por unas cuantas horas o durante toda la noche bajo agua corriente, y luego se colocarán en un recipiente con etanol al 70%.
3. Retirar los cadáveres de la formalina o alcohol y envolver cada animal individualmente en tela húmeda o toalla de papel.
4. Colocar los cadáveres envueltos (individualmente o unos pocos a la vez) en una bolsa doble con cierre
5. Colocar las bolsas dentro de dos bolsas plásticas grandes y empaquetarlas dentro de una caja fuerte para enviarlas con suficiente material de embalaje absorbente.
6. Sellar la caja con cinta de filamentos y despacharla por correo expreso o por correo regular.
7. Informar al museo sobre el envío y hacer el seguimiento para confirmar de que el mismo se recibió.